

UNIVERSITAT DE BARCELONA

FACULTAT DE FARMÀCIA

DEPARTAMENT DE NUTRICIÓ I BROMATOLOGÍA

**Efecto del consumo del aceite
de oliva sobre la composición
de las lipoproteínas de baja
densidad en individuos de
diferentes países europeos.**

Karina de la Torre Carbot, 2007

II. INTRODUCCIÓN



II. Introducción

1. Aceite de oliva

1.1. Generalidades

1.1.1. Historia

A pesar de las diferentes teorías sobre el origen del aceite de oliva, parece que el origen geográfico del olivo se encuentra en el Asia Menor, seis milenios antes de nuestra era. En la literatura clásica ha quedado reflejado su consumo por egipcios, griegos, romanos e israelíes en sus respectivos auges culturales. Se cree que su consumo se extendió a través de Chipre, al Mediterráneo Oriental gracias a comerciantes fenicios, los mismos que lo llevarían a la Península Ibérica. Sin embargo, la auténtica difusión del aceite de oliva se ha producido en nuestra época, especialmente desde finales de los años setenta, época en la que los científicos empezaron a prodigar sobre las ventajas que este aceite ofrece en la dieta mediterránea ³⁴. El aceite de oliva se revela como un elemento clave en la cultura mediterránea, como componente fundamental en la alimentación y como factor de desarrollo socioeconómico.

1.1.2. Cultivo

Actualmente, la superficie dedicada al cultivo del olivo en todo el mundo se evalúa, según el Consejo Oleícola Internacional (COI), en cerca de 8,800,000 hectáreas ocupadas por 800 millones de olivares, con diferentes variedades de aceituna, cada una con sus particularidades. Estas variedades proceden de las adaptaciones climáticas y de la forja del tiempo por el paso de muchos siglos y de muchas manos para su mejora. Los aceites de oliva representan sólo el 3% del consumo humano de aceite vegetal en todo el mundo, y son netamente superados por los aceites de soja (27%), palma (20%), colza (15%) y girasol (12%). La producción de aceite de oliva está mayoritariamente concentrada en

los países mediterráneos, donde se encuentra el 99% de la superficie del cultivo del olivo y se genera el 98% de la producción mundial de aceite de oliva, siendo la Unión Europea la principal productora ya que genera el 75% de la producción mundial, siendo España, Italia y Grecia quienes suministran más del 97% de la producción total de la Unión Europea ³⁵.

España presenta una mayor regularidad de sus cosechas, debido a la homogeneidad y al cuidado de sus plantaciones tradicionales frente a otros olivares mediterráneos en los que abundan plantaciones irregulares. El cultivo del olivo se da en todas las Comunidades Autónomas, excepto Galicia, Asturias y Cantabria, siendo la principal Comunidad Autónoma productora de aceite de oliva Andalucía, que posee el 60% de la superficie olivarera de España y produce el 80% de aceite de oliva de este país. El resto, se reparte principalmente entre Castilla-La Mancha, Extremadura, Cataluña y la Comunidad Valenciana. Sólo en España se contabilizan más de 260 variedades cultivadas de olivo, dentro de las cuales, la variedad Picual es la más importante a nivel mundial, y de ella se obtiene casi el 50% del aceite de oliva virgen en el territorio español, la cual tiene su origen en Jaén, otras variedades importantes son Hojiblanca (Córdoba), Cornicabra (Toledo), Arbequina (Arbeca), Lechín (Córdoba-Sevilla) y Empeltre (Aragón).

Actualmente en España hay 17 Denominaciones de Origen en aceites de oliva virgen: las de *Les Garrigues*, *Siurana*, *Ebre-Montisíá* y *Terra Alta* en Cataluña, y las de *Baena*, *Sierra Segura*, *Sierra Mágina*, *Sierra Cazorla*, *Priego*, *Poniente de Granada*, *Montes de Granad* y *Sierra Cádiz* en Andalucía, además de *Monte Toledo*, *Gata-Hurdes*, *Bajo Aragón*, *Monterrubio* y *Mallorca* ³⁴.

1.1.3. Proceso de obtención

La calidad del aceite de oliva virgen estriba fundamentalmente en ser un zumo de fruta, obtenido de aceitunas en perfectas condiciones, procedentes de olivos sanos. Como el aceite se encuentra localizado en su mayor parte en las vacuolas del mesocarpio de la oliva, es indispensable utilizar procedimientos mecánicos para liberar el aceite de los tejidos, de modo que las minúsculas gotas se reúnan

para separarse en una fase líquida continua. Las primeras operaciones a las que se someten las aceitunas antes de la extracción son: la eliminación mecánica de las impurezas vegetales, como hojas y ramillas; y el lavado, limpiándose los frutos de partículas extrañas como polvo, tierra, piedras y otros cuerpos sólidos, además de posibles restos de contaminantes agrícolas, como los pesticidas. A continuación, siguen las etapas de molienda y batido, operaciones básicas para la posterior extracción, ya que con ellas se pretende preparar la pasta de aceituna para facilitar que las gotas de aceite salgan de la masa ^{34:36}. Durante el proceso de molienda se evita la exposición del aceite al contacto con el aire para evitar pérdidas de aromas y limitar el deterioro de dicho aceite por oxidación ²³. Durante la molienda se pueden incorporar trazas de metales en el aceite que pueden provocar cambios en sus características sensoriales y actuar como catalizadores de la oxidación del aceite durante su almacenamiento. Por ello el equipo utilizado suele ser de acero inoxidable ³⁶. La maquinaria utilizada y el grado de batido, juegan un papel muy importante en el proceso de extracción del aceite de oliva. Si se aumenta la temperatura (haciendo girar el molino muy rápido, batiendo en exceso, o añadiendo agua caliente) disminuye la viscosidad del aceite y aumenta el rendimiento, pero la temperatura debe ser inferior a los 27°C, ya que de no ser así se provocan cambios físicos y biológicos en la pasta de la aceituna que van en detrimento de las características sensoriales del aceite.

Las operaciones descritas hasta ahora son comunes para todos los sistemas de extracción, a partir de aquí se pueden distinguir varios sistemas: el clásico de prensas o discontinuo, utilizado todavía de forma artesanal y el moderno en continuo donde se emplea la centrifugación ^{36:37}.

El proceso de extracción más empleado en la actualidad es la centrifugación de la pasta batida en una centrífuga horizontal. Se dice que se trabaja con un sistema continuo de dos fases si como resultado de la centrifugación se obtiene una fase oleosa (aceite) y un orujo muy húmedo, mientras que si se trabaja en tres fases, se obtendrá una fase oleosa, una fase acuosa (agua de vegetación o alpechín) y una fase sólida.

En todos los casos al final se suele hacer una clarificación o filtración que consiste en hacer pasar el aceite por diferentes tejidos o materiales porosos, normalmente tierra de diatomeas, en las cuales quedan retenidas las impurezas que lleva en suspensión ³⁴.

El aceite de oliva debe almacenarse en ausencia de luz y oxígeno a temperaturas adecuadas y en depósitos de materiales apropiados ³⁴.

1.1.4. Calidad y tipos de aceites de oliva

El significado de “calidad de aceite de oliva” se puede definir de muchas maneras. De hecho no hay una definición universal de calidad que pueda aplicarse acertadamente a cualquier situación. Encontramos desde definiciones que se refieren al cumplimiento de una normativa establecida, hasta las que hablan de los contenidos nutricionales, de la calidad sensorial, del tipo de presentación, de la vida de anaquel, etc. Además, la escala con que se mide la calidad de un determinado producto, en este caso el aceite de oliva, difiere en grado sumo según las distintas sociedades ³⁸⁻⁴⁰. En general, los aceites de oliva virgen de calidad deben tener un olor y sabor sin rancidez, alteraciones o contaminación.

La lipólisis o rancidez hidrolítica y la oxidación o rancidez oxidativa, son los dos procesos más serios que estropean la calidad del aceite de oliva. Dichos cambios pueden comenzar a producirse durante la extracción y sobre todo durante el almacenamiento ⁴¹.

La clasificación y la calidad de un aceite de oliva virgen se determinan por una serie de parámetros incluidos en la reglamentación de la Comisión de las Comunidades Europeas (nº 2568/91 y 1989/2003) ^{42;43}, entre ellos valoración organoléptica, índices físico-químicos de calidad como son la acidez libre, el índice de peróxidos y la absorbancia ultravioleta. En la **Tabla 1** se muestran algunos de los parámetros que exige el reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas para la clasificación del aceite de oliva.

Tabla 1. Características de exigidas de acuerdo al reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas para la clasificación del aceite de oliva.

Categoría	Acidez (%)	Índice de peróxidos mEq O ₂ /kg	Ceras mg/kg	K ₂₇₀	AGS en posición 2 De los triacilglicéridos
1. Aceite de oliva extra	≤ 0.8	≤ 20	≤250	≤ 0.22	≤ 1.5
2. Aceite de oliva virgen	≤ 2.0	≤ 20	≤250	≤ 0.25	≤ 1.5
3. Aceite de oliva lampante	> 2.0	-----	≤300	-----	≤ 1.5
4. Aceite de oliva refinado	≤ 0.3	≤ 5	≤350	≤ 1,10	≤ 1.8
5. Aceite de oliva común	≤ 1.0	≤ 15	≤350	≤ 0.99	≤ 1.8
6. Aceite de orujo crudo	-----	-----	>350	-----	≤2.2
7. Aceite de orujo refinado	≤ 0.3	≤ 5	>350	≤ 2,00	≤2.2
8. Aceite de orujo de oliva	≤ 1.0	≤ 15	>350	≤ 1,70	≤2.2

AGS, Ácidos grasos saturados.

Actualmente el reglamento de la Comisión de las Comunidades Europeas para la clasificación de aceites de oliva, tiene catalogados ocho tipos de aceites de oliva, de los cuales se comercializan en España cuatro. En la **Figura 1** se muestran los diferentes tipos de aceites de oliva existentes.

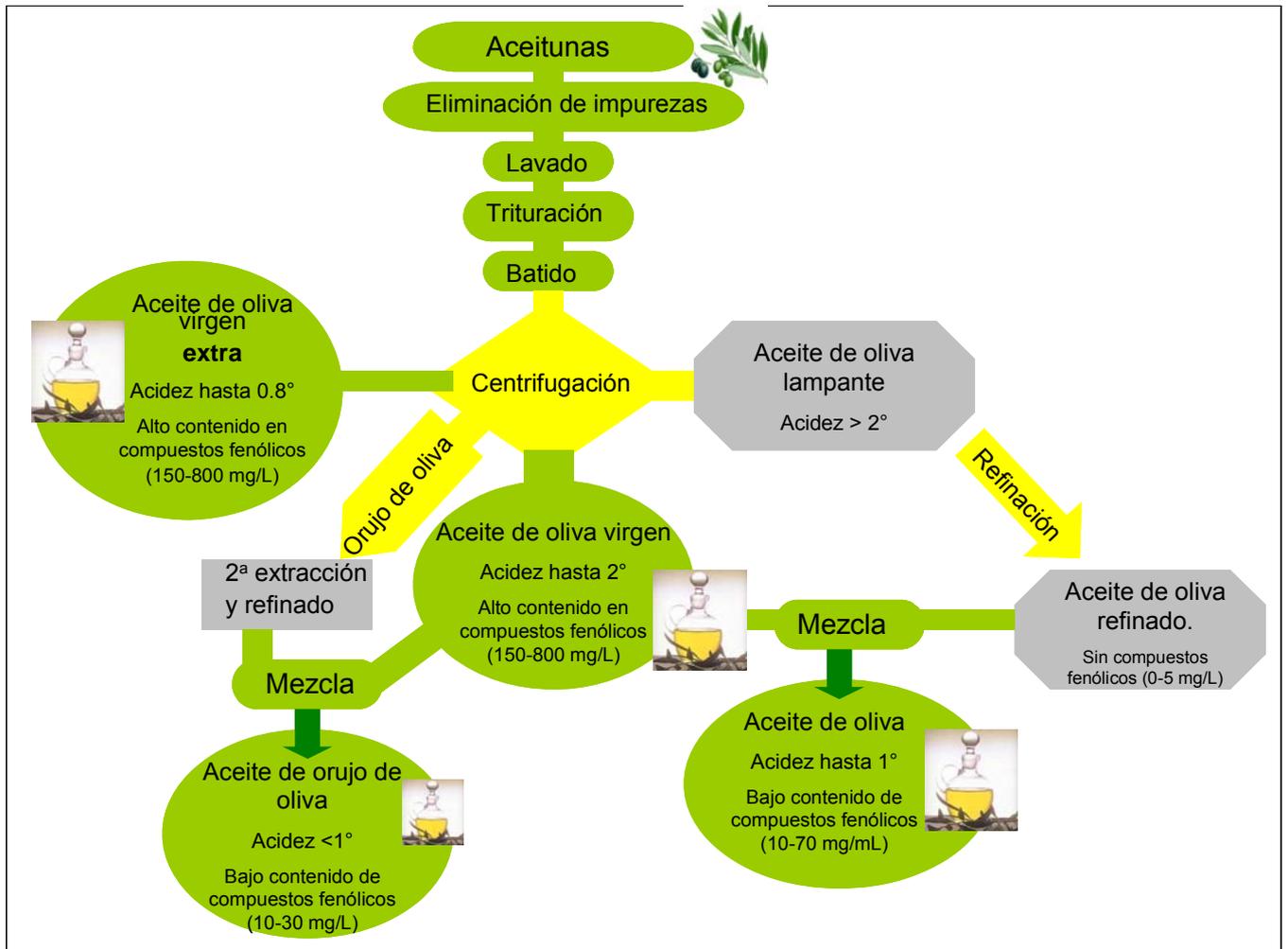


Figura 1. Tipos de aceites de oliva.

En primer lugar tenemos los **ACEITES DE OLIVA VÍRGENES**, que son aquellos obtenidos únicamente por procedimientos mecánicos u otros procedimientos físicos, en condiciones especialmente térmicas que no ocasionan la alteración del aceite. Para su obtención no se puede emplear ningún disolvente, ni se le puede aplicar ningún sistema de refinado físico o químico.

El aceite de oliva virgen con una acidez mayor a 2° no es apto para el consumo y se refina. De esta manera se obtiene un aceite inodoro e insípido, desprovisto de compuestos fenólicos y otros micronutrientes, al que se le conoce como ACEITE DE OLIVA REFINADO, el cual se mezcla con aceite de oliva virgen y se obtiene el ACEITE DE OLIVA, no hay una proporción fija aunque suele oscilar entre el 80 y 90% de refinado y el resto de virgen. El contenido de compuestos fenólicos de este último es menor.

Por otra parte, el ACEITE DE ORUJO DE OLIVA es el aceite obtenido del subproducto sólido resultante después de la obtención del aceite de oliva virgen, llamado orujo de aceituna, mediante un tratamiento con disolventes orgánicos. Necesariamente, tiene que ser refinado para eliminar los restos de disolvente y los productos indeseables, así como el mal olor y sabor. El aceite de orujo de oliva, se mezcla con aceite de oliva virgen para su comercialización con fines de consumo ³⁴.

Durante la producción del aceite de oliva no se permite la adición de antioxidantes sintéticos. Sólo se puede añadir el antioxidante natural α -tocoferol al aceite de oliva refinado, al aceite de orujo refinado y a las mezclas de aceite de oliva y orujo para conseguir una concentración máxima de 200 mg/kg con la finalidad de reemplazar el tocoferol natural que se ha perdido durante el refinado.

1.2. Composición del aceite de oliva

El aceite de oliva, al ser una fuente rica en lípidos, está constituida en un 98-99% por triacilglicéridos. Atendiendo al tipo de insaturación de los ácidos grasos presentes, los porcentajes van de un 55 a 83% para AGMI (ácido graso oleico), alrededor de 14% para los ácidos grasos poli-insaturados (AGPI), y el resto (14%) para los ácidos grasos saturados (AGS) ⁴¹. La presencia de AGPI en los aceites vegetales los hace muy susceptibles de ser oxidados. Por este motivo el aceite de oliva, rico en ácido oleico, es más resistente frente a la oxidación que los aceites de semillas ⁴⁴.

Dentro de la fracción insaponificable del aceite de oliva, se encuentran los hidrocarburos, componentes mayoritarios de esta fracción, entre los que destaca el escualeno, precursor de esteroides. El aceite de oliva es uno de los aceites vegetales más ricos en este compuesto. Dentro de esta fracción cabe destacar la presencia de sustancias antioxidantes, principalmente α -tocoferol, carotenos y compuestos fenólicos, principalmente en el aceite de oliva virgen. En cuanto a los esteroides destaca la presencia de β -sitosterol, otros esteroides presentes son el campesterol, estigmasterol, Δ 5-avenasterol y Δ 7-avenasterol. Los pigmentos del aceite de oliva son de dos tipos: los carotenoides, los de coloración anaranjada y los clorofílicos, causantes de la coloración verde.

Contiene también pequeñas cantidades de ácidos grasos libres, glicerol, mono y di-glicéridos, fosfolípidos, glucolípidos, alcoholes triterpénicos, entre los que destacan el eritrodiool y el uvaol y alrededor de 100 compuestos volátiles responsables del aroma. Finalmente, cabe recalcar que la composición química del aceite, puede variar de acuerdo a las variedades de olivas utilizadas para su elaboración, condiciones agroambientales, condiciones de cultivo y tipo de extracción entre otros factores ^{34:37:41}. En la **Tabla 2** se enumeran los componentes del aceite de oliva.

1.2.1. Compuestos fenólicos del aceite de oliva

Los compuestos fenólicos son un grupo complejo de compuestos pertenecientes al reino vegetal, formado por sustancias derivadas de la vía metabólica del siquímico/fenilpropanoide que poseen al menos un grupo fenol, unidos a estructuras aromáticas o alifáticas ⁴⁵. Son metabolitos secundarios de las plantas que tienen funciones antifúngicas y antibacterianas entre otras. Algunos de ellos son responsables de varios colores característicos presentes en el reino vegetal. Las olivas contienen compuestos fenólicos que pasan en pequeña proporción al aceite durante el periodo de extracción, principalmente durante la molienda y el batido.

Tabla 2. Composición de la fracción insaponificable del aceite de oliva
34;37;39;44;46;47.

Compuesto	Concentración/proporción
Hidrocarburos totales	310-370 mg/100g
Escualeno	300-700 mg/100g
Pigmentos	0-10 mg/kg
Clorofilas	
Carotenoides	0.5-10 mg/kg (en β -caroteno)
Luteína	30-60%
β -caroteno	5-15%
Tocoferoles	70-300 mg/kg
α -tocoferol	>93%
β y γ -tocoferol	<10%
δ -tocoferol	<1.5%
Esteroles	80-240 mg/100g
β -sitosterol	75-95%
campesterol	2-4%
stigmasterol	1-2%
Δ^5 -avenasterol	3-14%
Δ^7 -avenasterol	<0.7%
Compuestos fenólicos	50-1000 mg/kg (en ácido caféico)
Alcoholes triterpénicos (eritrodiol y uvaol)	100-300 mg/100g
Compuestos aromáticos	
Alcoholes	
Cetonas	
Ésteres	
Éteres	
Derivados furánicos	

El aceite de oliva virgen es prácticamente el único aceite que contiene cantidades notables de estos compuestos antioxidantes, ya que el resto de aceites comestibles al refinarse los pierden. Los compuestos fenólicos afectan a las características sensoriales del aceite de oliva como son color, astringencia, sabor ⁴⁸⁻⁵² y su vida de anaquel por retardar la oxidación ^{48;53;54}.

Los compuestos fenólicos mayoritarios del aceite de oliva son los no flavonoides, derivados de secoiridoides, grupo complejo, abundante en Oleaceas y muchas otras plantas. Sin embargo, el aceite también contiene ácidos fenólicos, alcoholes fenólicos, flavonoides y lignanos entre otros. La composición específica de compuestos fenólicos, como el resto de su composición en general, se ve afectada por la variedad de la aceituna con la que se hace el aceite, la región, condiciones ambientales y de cultivo, el grado de maduración de la oliva, y el tipo de extracción del aceite ^{48;55-63}, no obstante los compuestos fenólicos son eliminados cuando el aceite se somete al proceso de refinado. En la **Tabla 3** se presentan los compuestos fenólicos del aceite de oliva clasificados por grupos ^{23;40;50;52;64-81}.

Los secoiridoides son producidos por el metabolismo secundario de terpenos y son provenientes de la ruta metabólica del acetato/mevalonato, caracterizados por la presencia de ácido elenólico en su estructura ^{48;59}. Están formados específicamente por derivados de ligstrósidos y de oleuropeína, conformando un 77-88% de compuestos fenólicos en el aceite de oliva. Estos se derivan de las formas glucosiladas que naturalmente se forman en el fruto ⁸²⁻⁸⁵. En la **Figura 2** se presentan los principales secoiridoides y algunos de sus derivados.

La oleuropeína y el ligstrósido se definen como el ester heterosídico del ácido elenólico y el di-hidroxifenil-etanol (hidroxitirosol) y el hidroxifenil-etanol (tirosol) respectivamente, ambos secoiridoides unidos a un residuo glucosídico, por lo que la diferencia entre ligstrósido y oleuropeína es en número de grupos OH que están presentes en este anillo aromático, dos para oleuropeína y uno para ligstrósido.

Tabla 3. Compuestos fenólicos presentes en aceites de oliva.

NO FLAVONOIDES

➤ **ÁCIDOS FENÓLICOS Y DERIVADOS**

- Ácido caféico
- Ácido *p*-cumárico
- Ácido *o*-cumárico
- Ácido ferúlico
- Ácido *p*-hidroxibenzóico
- Ácido homovainílico
- Ácido vainílico
- Ácido siríngico
- Ácido gálico
- Ácido hidroxicaféico
- Ácido protocatéquico
- Ácido gentísico
- Ácido siquímico
- Ácido sinápico
- Ácido *p*-hidroxifenilacético
- Ácido 3,4 dihidroxifenilacético
- Vainillina

➤ **COMPUESTOS FENÓLICOS NO CARBOXÍLICOS**

ALCOHOLES FENÓLICOS Y DERIVADOS

- **Hidroxitirosol**
- **Tirosol**
- acetato de hidroxitirosol
- acetato de tirosol

SECOIRIDOIDES

- **Derivados de oleuropeína**
- **Derivados de ligstrósido**

LIGNANOS

- Pinoresinol
- 1-acetoxipinoresinol
- hidroxipinoresinol

ISOCROMANOS

- 1-fenil-6,7-dihidroxi-isocromano
- 1-(3'-metoxi-4'-hidroxi)fenil-6,7-dihidroxi-isocromano

FLAVONOIDES

- Luteolina
 - Apigenina
 - Metoxiluteolina
 - Quercetina
-

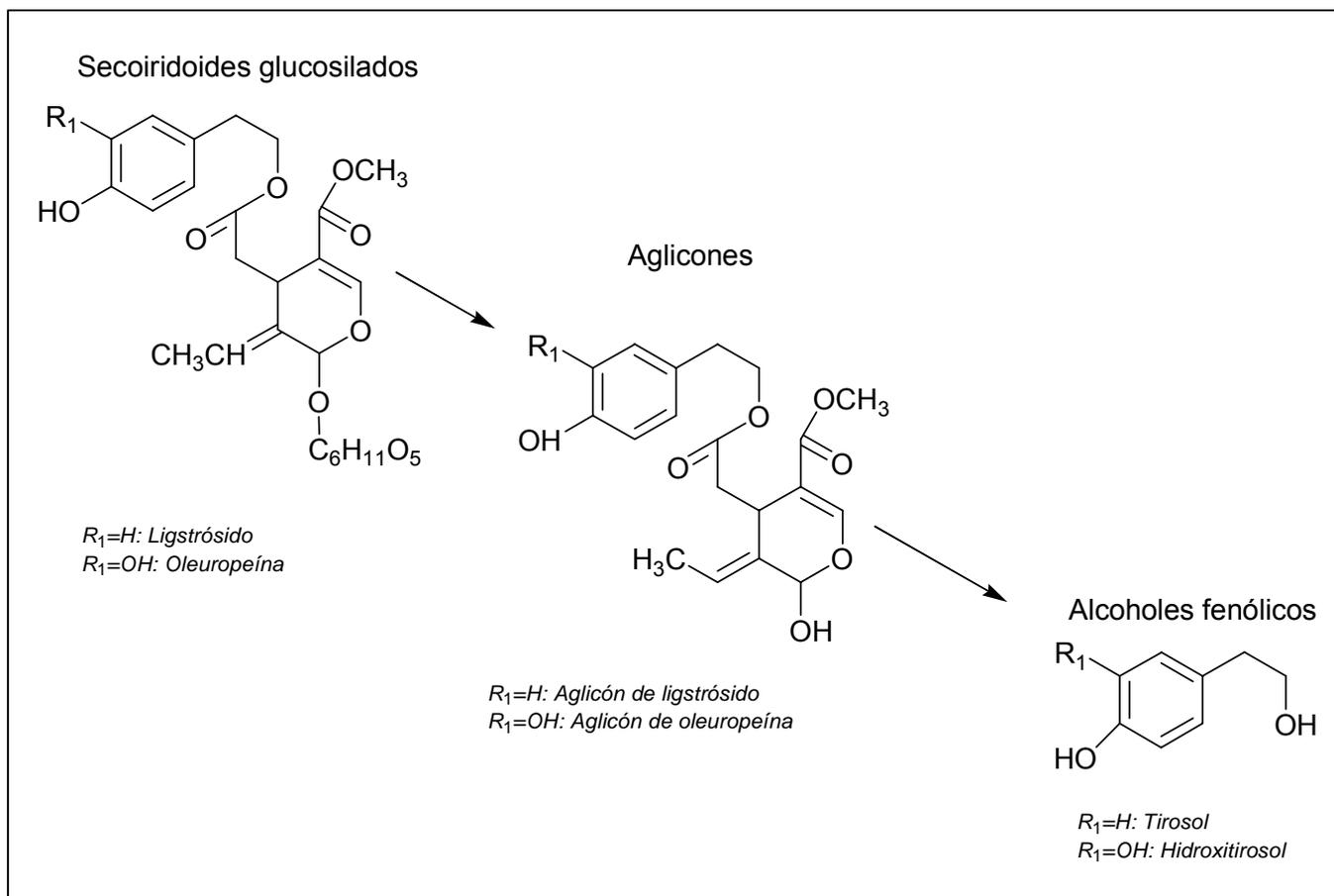


Figura 2. Secoiridoides y derivados.

Durante el proceso de molienda, trituración, extracción y almacenamiento se tiene lugar la hidrólisis del enlace glucosídico y el aglicón pasa al aceite. Posteriormente son generadas isoformas en la estructura elenólica, que conservan el anillo fenólico ⁷⁰, siendo algunas de ellas reversibles para mantener el equilibrio ^{74;80;81;86-89}. Estas moléculas van rompiéndose principalmente por la acidez del aceite, liberándose la formación elenólica de estos compuestos y dando a lugar a moléculas más simples como el hidroxitirosol y tirosol.

La formación de diferentes aglicones y algunas isoformas, hacen del grupo de los secoiridoides un grupo muy complejo y muchos de estos compuestos no han podido ser identificados completamente, por lo que los datos que actualmente se encuentran en la bibliografía son difíciles de comparar, y la información a veces es inconsistente, incompleta y contradictoria.

2. La enfermedad cardiovascular.

Proceso aterosclerótico

2.1. Generalidades

En la actualidad, el envejecimiento de la población representa una preocupación social y económica en países desarrollados por el número de personas que sufren diversas patologías crónico-degenerativas relacionadas con la edad avanzada como son las enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, y enfermedades neurodegenerativas ^{1;14;90;91}. Las enfermedades cardiovasculares ocupan los primeros lugares como causa de mortalidad en estos países ¹⁻⁴.

2.2. Factores de riesgo

El riesgo cardiovascular está asociado a diferentes factores que a continuación se enumeran ^{1;2;6;92-94}:

- Malos hábitos alimentarios y del estilo de vida:
 - Consumo elevado de colesterol
 - Consumo elevado de ácidos grasos saturados (AGS)
 - Consumo elevado de ácidos grasos trans
 - Pobre consumo de frutas y verduras
 - Vida sedentaria
 - Estrés
 - Tabaquismo

- Parámetros bioquímicos y clínicos:
 - Triacilglicéridos elevados (>150 mg/dL)
 - Valores de (LDL) elevados (>4.1 mmol/L ó 160 mg/dL)
 - Valores de lipoproteína de alta densidad (HDL) disminuidos (<0.9 mmol/L ó 35 mg/dL)

- Hipercolesterolemia (>4.6 mmol/L, o bien 180mg/dL)
 - Relación LDL/HDL >2.5
 - Altos niveles de LDL oxidada en plasma
 - Hipertensión: Presión sanguínea sistólica >140 mm Hg y diastólica >90 mm Hg
 - Hiperglucemia (valores en ayunas >6.0 mmol/L ó >110mg/dL)
 - Obesidad (IMC>27)
 - Alto porcentaje de grasa intra-visceral
 - Hipertrofia Ventricular izquierda
 - Otros: Niveles plasmáticos elevados de insulina, fibrinógeno, Lipoproteína (a) (Lp(a)), homocisteína, microalbumina, hemoglobina glicada, remanentes lipoprotéicos, partículas pequeñas de LDL, entre otros
- Factores no modificables:
 - Edad
 - Sexo masculino
 - Post-menopausia
 - Factores hereditarios

2.3. Proceso de oxidación y antioxidantes

Muchas investigaciones apuntan hacia la estrecha relación que existe entre los procesos de oxidación y las enfermedades crónico-degenerativas ya mencionadas. El proceso de oxidación comprende la formación de radicales libres capaces de causar daños irreparables.

La oxidación causada por estas especies reduce la capacidad para combatir los efectos del envejecimiento y enfermedades crónico-degenerativas, por lo que se han asociado a multitud de procesos clínicos incluyendo lesiones inflamatorias, lesiones por tóxicos y radiaciones, sobrecarga de hierro, enfermedades autoinmunes, diabetes, daño renal, efisema pulmonar, artritis reumatoide, enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson y Alzheimer, demencia senil, cáncer, aterosclerosis y otras

enfermedades cardiacas. De hecho, el propio envejecimiento se considera como el resultado del daño oxidativo, principalmente a la mitocondrias celulares a través del paso del tiempo ^{14;95-97}.

2.3.1. Radicales libres

Un radical libre es una especie química definida que tienen en su estructura uno más electrones desapareados, lo que lo convierte en un compuesto altamente inestable, altamente reactivo con gran capacidad de formar otros radicales libres y dañar estructuras celulares ^{95;96}. Estos compuestos, buscan aparear el electrón desapareado con el fin de estabilizarse por lo que, cuando la molécula que ha sido atacada ha perdido un electrón, se convierte en un radical libre, generándose así una reacción en cadena en la cual se forman más radicales libres o se forman otras sustancias tóxicas. Generalmente los radicales libres atacan las moléculas estables más cercanas. Los radicales libres se generan de forma natural durante el metabolismo por medio de la reducción parcial de la molécula de oxígeno formándose así especies reactivas como el hidroperóxido de hidrógeno (H_2O_2), superóxido ($O_2\bullet$), hidroperoxilo ($HO_2\bullet$) e hidroxilo ($OH\bullet$) entre otros. La producción puede incrementar frente a diferentes estados de estrés fisiológico. A concentraciones elevadas pueden dañar la mayoría de los constituyentes celulares. Los radicales libres son capaces de dañar de forma reversible o irreversiblemente todo tipo de compuestos bioquímicos, incluyendo ácidos nucleicos, proteínas, aminoácidos libres, lípidos e hidratos de carbono. Este efecto ocasiona desestabilización o desintegración de los componentes celulares ⁹⁵.

Los radicales libres inician y causan primordialmente la peroxidación de los lípidos (triacilglicéridos, fosfolípidos y lipoproteínas). La peroxidación lipídica se considera un proceso radicalario autocatalítico y tiene un papel trascendental en la fisiopatología de la aterosclerosis.

Los posibles efectos dañinos de las moléculas reactivas de oxígeno, nitrógeno, hierro y cobre, son controlados por la barrera antioxidante

orgánica. No obstante el estrés oxidativo surge fruto del desequilibrio entre la producción de especies reactivas y las defensas antioxidantes del organismo ^{2;98}. En la **Figura 3** se presentan los factores que estimulan e inhiben la oxidación de sistemas biológicos.

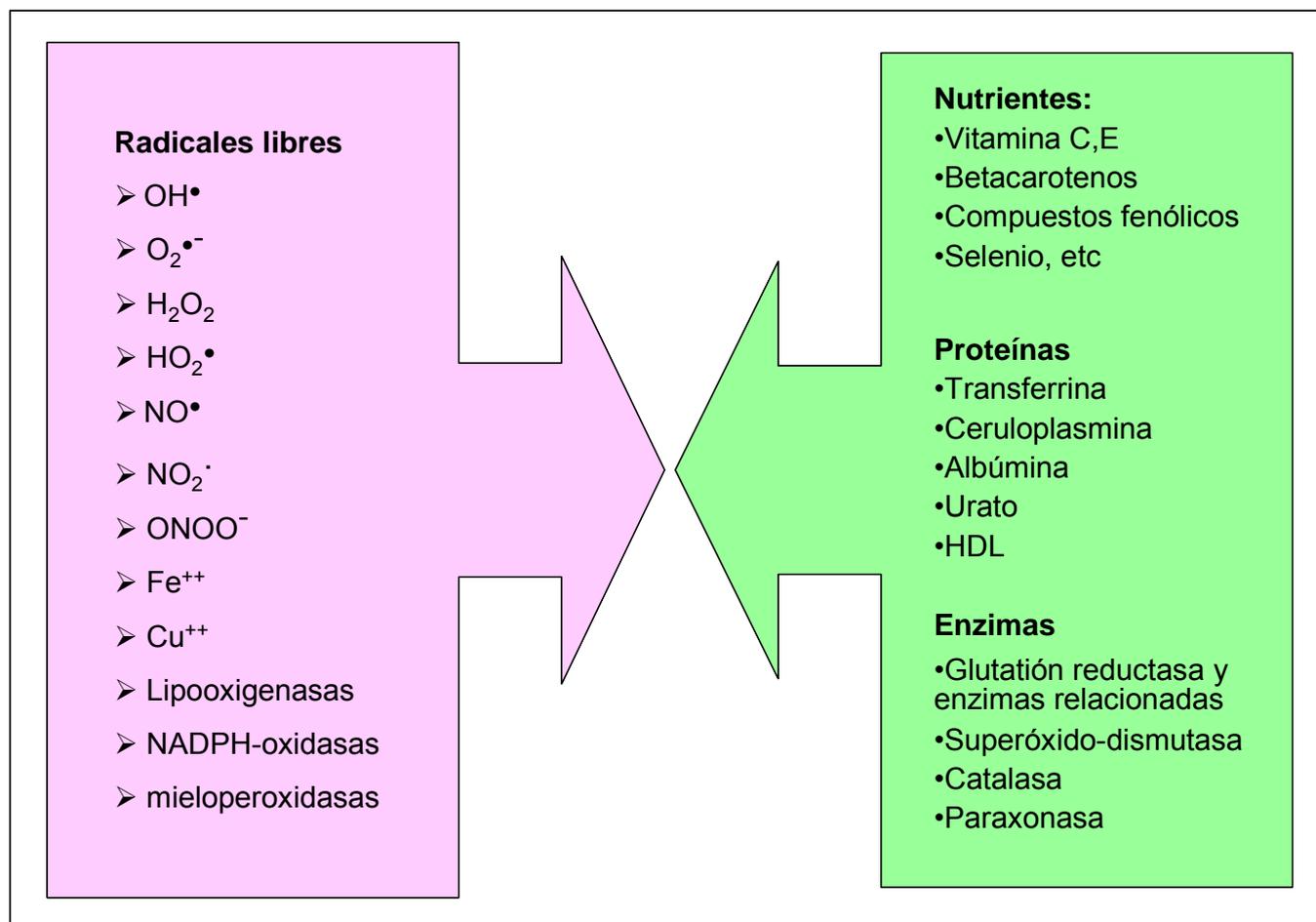


Figura 3. Factores que estimulan (izquierda) e inhiben (derecha) la oxidación de sistemas biológicos.

2.3.2. Antioxidantes

Existen antioxidantes exógenos y endógenos según su procedencia. En la **Figura 4** se presenta un esquema de los mecanismos antioxidantes endógenos. También se pueden clasificar de acuerdo a su campo de acción en primarios (impiden la formación de radicales libres y quelan metales de transición); secundarios (interrumpen la reacción de propagación por

inactivación o desplazan a las especies reactivas de oxígeno), o terciarios (reparan el daño causado a las moléculas o eliminan aquellas que se han estropeado) ⁹⁵. Muchos de ellos pueden pertenecer a más de una clase. Los compuestos fenólicos pueden detener la cadena de radicales libres de reacciones oxidativas por medio de la donación de átomos de hidrógeno de sus grupos hidroxilo, formando radicales libres relativamente estables que no inician o propagan más oxidación de lípidos ^{95;99}.

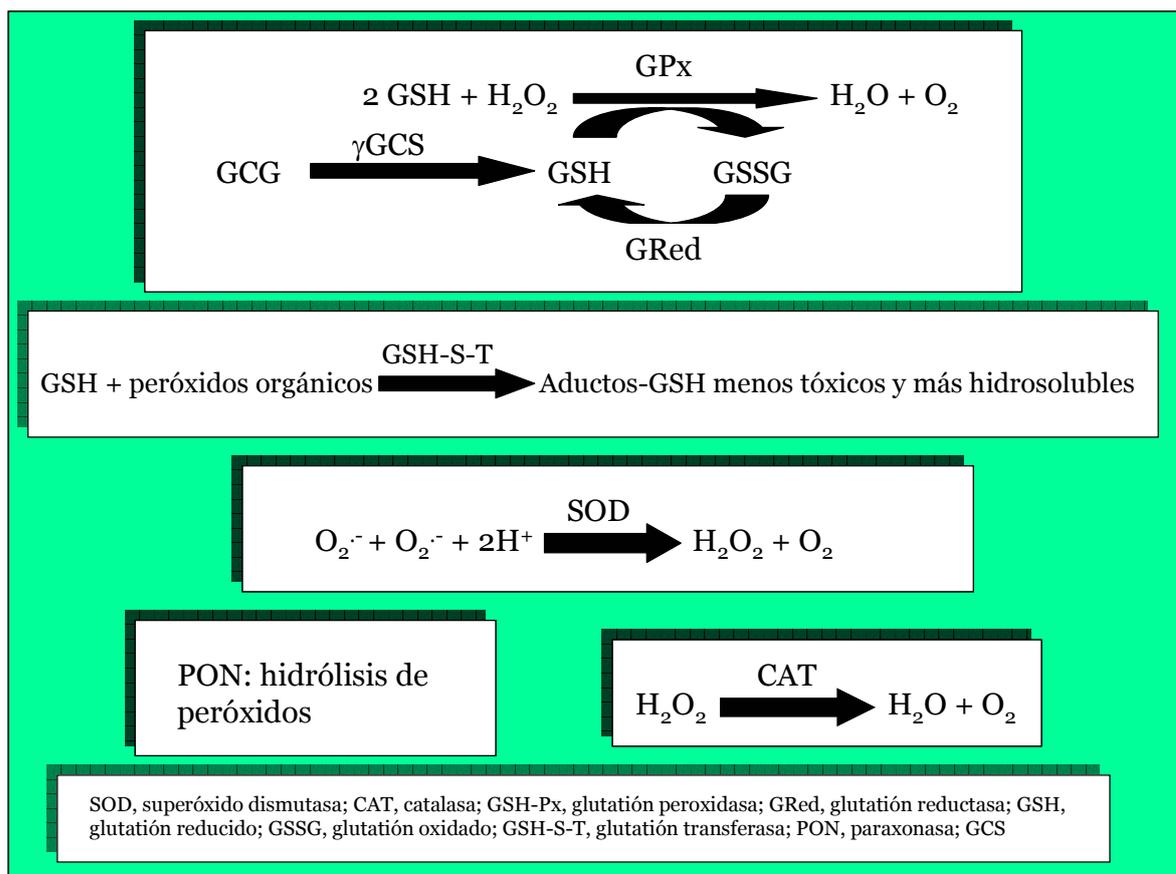


Figura 4. Sistema endógeno antioxidante.

2.4. Marcadores de estrés oxidativo

Entre las técnicas disponibles para la determinación específica de la oxidación lipídica, existen métodos directos e indirectos. La resistencia y la determinación de fase de latencia de la LDL de la oxidación mediante la monitorización de la formación de dienos conjugados espectro-

fotométricamente, ha sido el método más ampliamente aceptado a pesar de ser una medida indirecta de la peroxidación lipídica.

Se dispone además de técnicas de enzimo-inmunoensayo para la determinación de anticuerpos contra la LDL oxidada y apoB modificada. Cabe destacar como métodos analíticos directos de la lipoperoxidación la determinación de F2-isoprostanos (compuestos derivados de la lipoperoxidación del ácido araquidónico), lipoperóxidos e hidroperóxidos lipídicos, aldehídos (evaluados como sustancias reactivas al ácido barbitúrico (TBARS)), oxisteroles (productos derivados de la oxidación del colesterol) y malondialdehído (MDA).^{19;97;100-102.}

Determinaciones regularmente usadas como marcadores de estrés oxidativo son las vitaminas antioxidantes, , generación de radicales libres y activación y/o liberación de enzimas del sistema endógeno y estudio de otros compuestos relacionados con modificación proteica y ADN^{17;19;22;22;100;101;103;104.} En la **Tabla 4** se presentan marcadores de estrés oxidativo y marcadores de lipoperoxidación comúnmente usados^{105.}

Estos marcadores se analizan en estudios *in vitro*, *ex vitro* o *in vivo*. Los estudios para investigar el papel protector de compuestos fenólicos del aceite de oliva ante el riesgo cardiovascular (en relación a la capacidad antioxidante) *in vitro* generalmente se basan en la exposición de la LDL o de diferentes líneas celulares con algún metal o algún otro agente oxidante en presencia de estos compuestos fenólicos. Es comúnmente utilizado el cobre en forma de CuSO₄ o CuCl₂^{19;20;22;100;101;106-108.} En estudios *in vivo*, generalmente se usan aceites de oliva con diferente contenido de compuestos fenólicos, el cuál o los cuáles son administrados a la población estudiada, a la que posteriormente se le analizan diferentes parámetros de oxidación normalmente en plasma u orina^{17;18;18;109-114.} De igual manera, pueden desarrollarse investigaciones de la capacidad antioxidante del plasma y/o la susceptibilidad a la oxidación de la LDL obtenida de esta población (estudios *ex vivo*)^{115;116.}

Tabla 4. Marcadores de estrés oxidativo y de lipoperoxidación comúnmente usados.

Determinación	Método de laboratorio
Glutación peroxidasa (GPx), glutación reductasa (GRed), superóxido dismutasa (SOD)	Métodos enzimáticos. Se determina la disminución de NADPH como marcador de lipoperoxidación
Glutación reducido (GSH/ Glutación oxidado (GSSG)	Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)
Vitaminas, principalmente α -tocoferol y β -caroteno	HPLC
Compuestos fenólicos	CG-Espectrometría de masas (MS) y HPLC-MS
Lipoperoxidos/aldehídos	GC-MS
Aldehídos	Fluorómetro, GC-MS, HPLC, anticuerpos. Se usan anticuerpos para determinar proteínas modificadas por productos de la lipoperoxidación
TBARS	Test-TBA, Espectrofotometría y Fluorometría. Se leen aductos TBA-MDA a 532nm y 553nm respectivamente
Dienos Conjugados	Espectrofotometría (UV). detección a 234 nm
LDL oxidada	Técnicas ELISA con anticuerpos anti epítomos de apoproteína B (apo B) oxidados ligados a la placa
Pérdida de ácidos grasos insaturados	CG o HPLC. Muy útil como marcador de lipoperoxidación inducida
Pentano, etano, isopreno	CG. Análisis de gases formados durante la lipoperoxidación
Oxisteroles	GC-MS. Permite analizar marcadores de aterogénesis y reguladores de la homeostasis del colesterol
F2-isoprostanos	GC-MS, HPLC, enzimoimmuno ensayo. Detección de isómeros de prostaglandinas producidos por la peroxidación de ácido araquidónico.
Radicales libres inertes	Resonancia de spin electrónico. Permite inferir e identificar factores de estabilidad radicalaria

2.5. Proceso aterosclerótico y oxidación de la LDL

2.5.1. Oxidación de la LDL

Las LDL oxidadas están presentes en las lesiones ateroscleróticas. Existe evidencia de que el colesterol LDL en su estado “original” no es tan perjudicial, sin embargo, una mayor concentración de LDL en plasma implica un incremento en la entrada de estas partículas en la pared arterial y la existencia de más sustrato para la actuación de los radicales libres para generar LDL oxidadas, que constituye una gran amenaza para la pared arterial. Las modificaciones oxidativas de las LDL incrementan su aterogenicidad. El estado oxidativo le confiere particularidades estructurales a la LDL, que le proporciona epítopes para ser reconocida por células del sistema inmunológico. Una excesiva acumulación de LDL oxidada o colesterol libre son los principales componentes de los macrófagos en lesiones ateroscleróticas avanzadas que inducen a la apoptosis de estas células derivando en células espumosas y produciendo mayores desestabilizadores plaquetarios y factores pro-inflamatorios ^{6-8;98;104;117-119} .

Existen diversos mecanismos por los cuales se puede oxidar la LDL y todos ellos dependen del estado oxidativo de las células de su entorno. La oxidación de las LDL ocurre predominantemente en la arteria íntima. Estudios *in vitro* han demostrado que tanto los macrófagos, los monocitos, las células endoteliales como las células del músculo liso de la pared arterial son capaces de oxidarla liberando especies reactivas del oxígeno cuando estas células son sujetas a estrés oxidativo. Dicho estrés oxidativo depende del balance entre la generación intracelular pro-oxidante dado por enzimas oxigenasas (NADPH-oxidasa, lipooxigenasa, mieloperoxidasa) y aniones superóxidos y la eficiencia de la defensa por el contenido de antioxidantes como la SOD, GSH y enzimas relacionadas como GPx, GRed y glutamilstein sintetasa (γ GCS) ^{104;120}.

Los cambios de LDL nativa a LDL oxidada están ocasionados después de haber sufrido procesos de proteólisis y fragmentación. Estas partículas tienen una composición diferente de aminoácidos que las nativas. La proteína se encuentra covalentemente modificada por los productos de la peroxidación de los lípidos y contiene en su estructura nuevos grupos funcionales como protein-carbonilos, ácidos sulfónicos y ácidos carboxílicos. Otro efecto puede ser la cloración y la nitración de la partícula, lo que la vuelve altamente antigénica. Los AGPI se depletan, mientras que contiene en cambio cantidades masivas de peróxidos lipídicos y sus productos de degradación, mientras que incrementa la cantidad de colesterol oxidado. La partícula puede contener también fosfolípidos parcialmente oxidados ¹¹. En la **Figura 5** se representa una LDL nativa y otra oxidada.

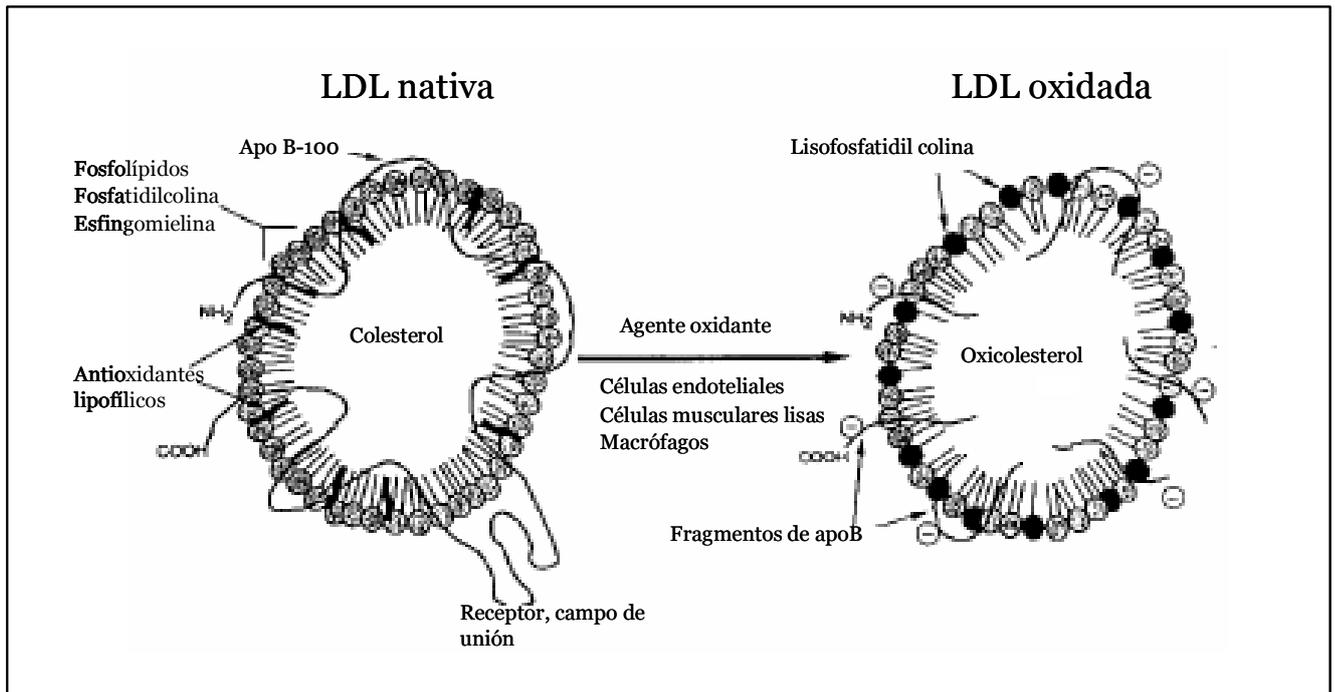


Figura 5. LDL nativa y LDL oxidada.

2.5.2. Proceso aterosclerótico

La aterosclerosis es el resultado de una respuesta inflamatoria de la pared arterial con diferentes formas de lesión, adoptando dicho proceso un carácter crónico, en el cual, la acumulación de LDL en el espacio subendotelial es uno de los primeros episodios asociados al desarrollo de estas lesiones ateroscleróticas. En zonas donde existe una disfunción endotelial que facilita la infiltración de LDL al espacio subendotelial, las LDL penetran, interaccionan con proteínas de matriz extracelular y sufren procesos de modificación. La modificación de las LDL de la que se tiene un mayor conocimiento es la oxidación, a la cual anteriormente nos hemos referido.

El proceso aterosclerótico incluye la activación de monocitos a macrófagos¹²¹. Los monocitos circulantes son atraídos por las LDL oxidadas retenidas en la pared y la producción incrementada de proteína quimio-atrayente para monocitos (MCP-1), de esta manera se adhieren al endotelio, atravesándolo a través de los espacios intracelulares y migrando a la íntima, donde se activan a macrófagos, por medio del estímulo de las LDL modificadas. Por la acumulación masiva y descontrolada de colesterol en los macrófagos se forman las células espumosas, cuya acumulación forman las estrías grasas, mientras se llevan a cabo procesos de proliferación de células musculares lisas, que migran a la íntima atraídas por factores quimio-atrayentes y contribuyen a la evolución de las lesiones⁵. En la **Figura 6** se presenta el diagrama del inicio del proceso aterosclerótico.

La oxidación de las LDL desempeña un papel clave en el proceso de acumulación de materiales lipídicos en las placas, ya que activan el endotelio y poseen mayor capacidad que las LDL nativas de inducir la adhesión de monocitos y la formación de células espumosas. En la **Tabla 5** se presentan las propiedades fisiopatológicas de la LDL oxidada¹¹.

Tabla 5. Propiedades fisiopatológicas de la LDL oxidada^{11;115}10.

1. Inducen la expresión de la MCP-1 y de moléculas de adhesión como la molécula 1 de adhesión vascular (VCAM-1) y la P-selectina en células endoteliales, lo que facilita la unión de monocitos circulantes al endotelio.
 2. Promueven la activación del sistema inmunológico por tener un efecto antigénico.
 3. Promueven la diferenciación de monocitos a macrófagos y la incorporación de estas partículas a estas células
 4. Estimulan la formación de células espumosas y promueve en ellas la acumulación de complejos lipídico-protéicos.
 5. Provocan apoptosis de las células endoteliales y alteran la producción por las células endoteliales de óxido nítrico (NO)
 6. Estimulan la proliferación de células musculares lisas.
 7. Modulan la activación del factor nuclear kappa β (NF- $\kappa\beta$), punto clave en la activación de múltiples efectos ligados al proceso aterosclerótico.
 8. Inducen la expresión de interleucina-1 por macrófagos.
 9. Promueven la agregación plaquetaria y la formación de trombos
 10. Promueven la disfunción endotelial y cito-toxicidad, inhibiendo la relajación del endotelio.
-

El reconocimiento de la LDL oxidada por otras proteínas presentes en la superficie celular puede explicar la señalización en diferentes rutas metabólicas que desencadenan los factores aterogénicos explicados anteriormente.

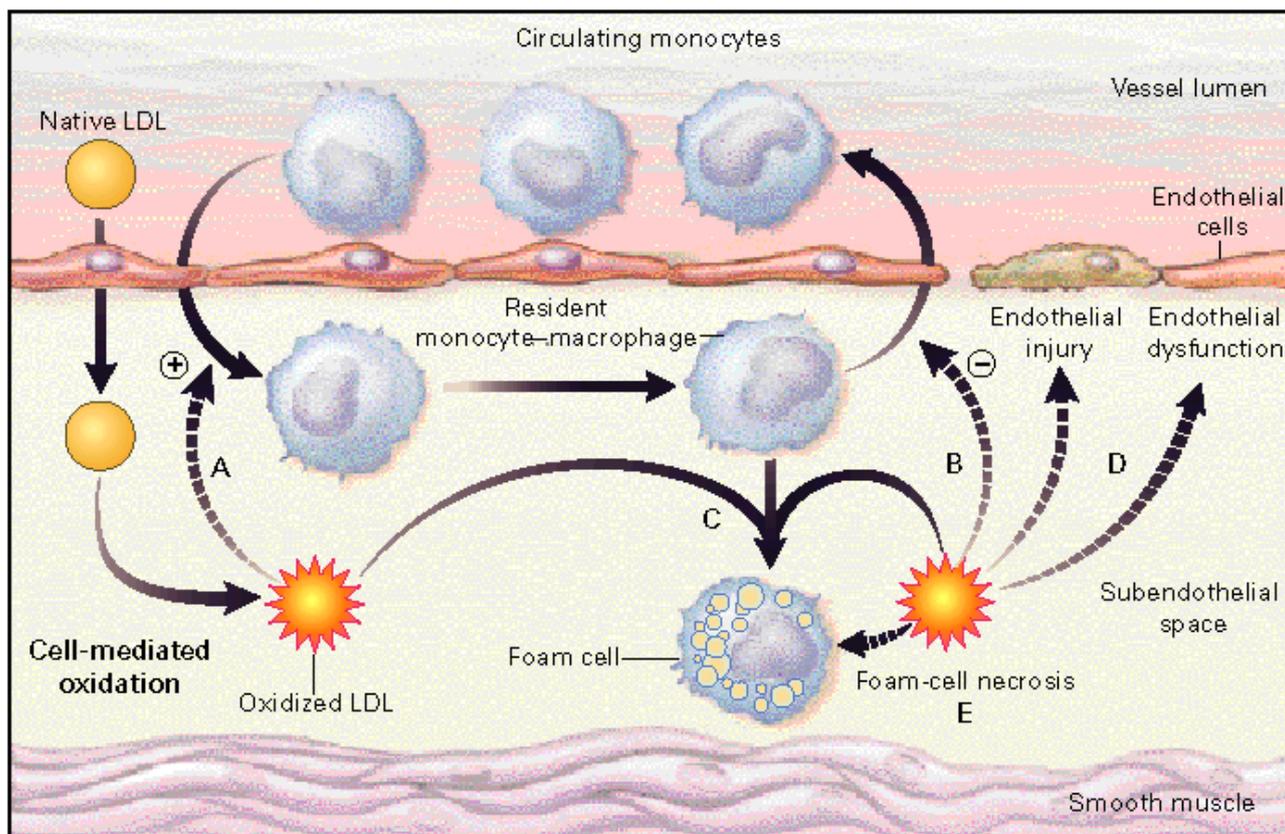


Figura 6. Diagrama del inicio del proceso aterosclerótico y el papel de la LDL oxidada.

2.6. La paradoja antioxidante-oxidante

Parece una contradicción, que el oxígeno, esencial para la vida, también contribuye al proceso de envejecimiento celular por estar involucrado en los procesos oxidantes. Es por esto que la vida aeróbica ha envuelto una amplia variedad de mecanismos en defensa de este mecanismo. Así pues, los procesos de oxidación-antioxidación son producidos naturalmente como parte del metabolismo y existen otras aparentes contradicciones.

11;95;97.

Se ha demostrado que algunos antioxidantes, entre ellos algunos compuestos fenólicos, bajo ciertas condiciones, como su presencia en altas concentraciones, un alto pH o la presencia de algunos metales radicalarios,

pueden iniciar un proceso auto-oxidante y comportarse como pro-oxidantes, ^{11;95;122-124}.

- Las propiedades antioxidantes de diferentes compuestos fenólicos pueden cambiar como consecuencia de su estado de oxidación, y algunos compuestos fenólicos con un estado intermedio de oxidación pueden exhibir una acción secuestradora más alta que los compuestos fenólicos no oxidados, esto puede ser debidos a su incremento en la habilidad de su estructura aromática a entrar en resonancia con electrones desapareados ⁹⁵.
- Aunque a concentraciones elevadas, los radicales libres pueden dañar la mayoría de los constituyentes celulares, a concentraciones moderadas, éstos pueden desempeñar un papel importante como mediadores en la regulación de varios procesos fisiológicos. Por ejemplo, el NO tiene especial interés por ser sintetizado por las células endoteliales como factor vasodilatador ¹²⁵.
- Aunque se sabe que una excesiva acumulación de LDL oxidada, estimula la acción de los macrófagos en lesiones avanzadas e inducir su apoptosis, se ha demostrado que LDL mínimamente oxidada, la cual es un producto temprano en de la oxidación de esta partícula, puede contribuir a prolongar la sobre-vivencia del macrófago en las lesiones, sin embargo este campo debe ser mayormente estudiado ¹¹⁷.

Lo mencionado anteriormente sugiere que existen muchos procesos naturales en lucha por el mantenimiento de un equilibrio fisiológico. A pesar de la gran importancia que tienen los antioxidantes para la prevención de ciertas enfermedades, no es tarea sencilla determinar exactamente los requerimientos, y por ello el consumo de estas sustancias a dosis elevadas como suplementos con fines profilácticos no está justificada de acuerdo a los conocimientos actuales ^{2;7;13;94}. Lo más prudente y científicamente sostenible es recomendar para la población en general

consumir una dieta balanceada con un énfasis especial en el consumo de alimentos ricos en antioxidantes ^{95;123}.

2.7. Composición de la LDL

Los lípidos constituyen un conjunto muy heterogéneo de moléculas con funciones biológicas diferentes y cuya característica común es su poca solubilidad en el agua. Así, excepto los ácidos grasos no esterificados que se asocian a la albúmina, los triglicéridos (TG) y el colesterol son transportados en la sangre unidos a proteínas en forma de lipoproteínas ¹²⁶. Estas partículas tienen una estructura miscelar con un interior apolar marcadamente hidrófobo y una cubierta externa polar y por tanto más hidrofílica. Las apoproteínas junto con el colesterol no esterificado y los fosfolípidos se disponen en la cubierta externa, favoreciendo la solubilidad de la partícula, mientras que los lípidos apolares (triacilglicéridos y colesterol esterificado) se sitúan en el interior. Las apoproteínas además de solubilizar lípidos contienen señales para ciertas células diana ^{1;127}.

Las lipoproteínas se clasifican según su densidad, que depende de su composición lipídica y proteica. Los lípidos tienen una densidad muy pequeña (<0,95 kg/l) mientras que las proteínas tienen una densidad superior (del orden de 1,45 kg/l). Cuanto mayor es la proporción de lípidos, especialmente los apolares, mayor será el tamaño de las miscelas y menor será la densidad de las lipoproteínas. Así pues se conocen diferentes familias de lipoproteínas según su densidad: los quilomicrones, las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL). También debido a la presencia de proteínas, las lipoproteínas se pueden clasificar en función de su migración electroforética. Se han aislado y caracterizado diez clases diferentes de apoproteínas: A-1, A-2, A-4, B-48, B-100, C-1, C-2, C-3, D y E. Todas ellas son sintetizadas y secretadas por el hígado y el intestino ¹²⁸.

La **Figura 7** representa un esquema del metabolismo de las lipoproteínas.

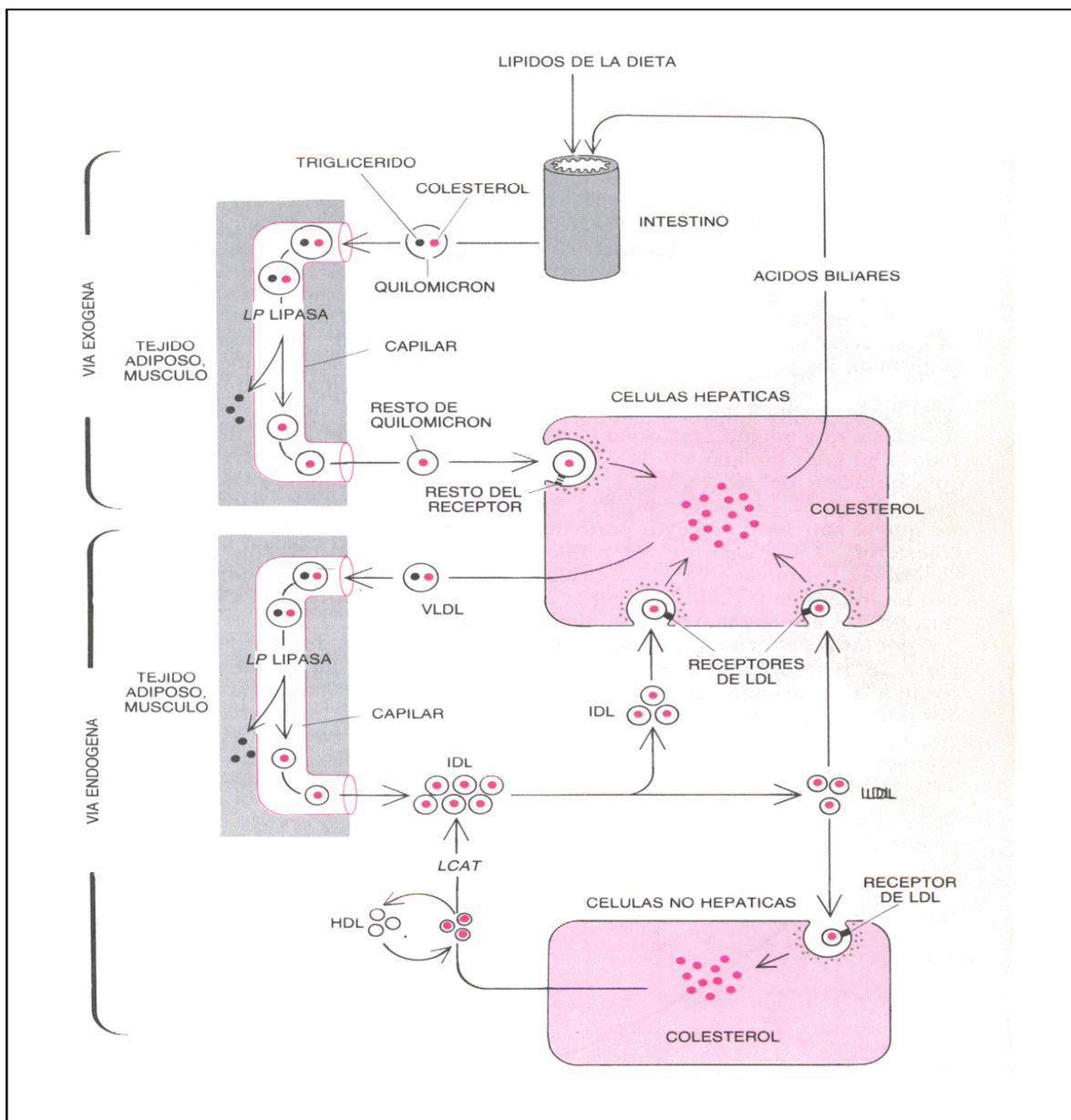


Figura 7. Metabolismo de las lipoproteínas.

Los triglicéridos, el colesterol y otros lípidos de la dieta se transportan desde el intestino en forma de grandes quilomicrones. Tienen una densidad muy baja porque los triglicéridos constituyen el 99% de su contenido. La apoproteína B-48 forma una envoltura esférica anfipática alrededor del glóbulo de grasa. Los TG de los quilomicrones son hidrolizados por las lipoproteinlipasas, localizadas en el revestimiento de los vasos sanguíneos del músculo (que utiliza los ácidos grasos como combustible) y del tejido adiposo (que los almacena en forma de TG). El residuo o remanente del

quilomicrón que es muy rico en colesterol es atrapado en el hígado. Los TG y el colesterol que están en exceso para las propias necesidades del hígado se secretan a la sangre en forma de VLDL. Estas partículas están estabilizadas por dos proteínas, la apo B-100 y la apo E, ambas con capacidad para unirse al receptor de la LDL, pero siendo esta última la más afín por el receptor hepático. Los TG de las VLDL, como ocurre con los quilomicrones, son hidrolizados por las lipasas de la superficie de los capilares. Los remanentes resultantes, que son ricos en ésteres de colesterol y que mantienen aún las dos apoproteínas, se llaman IDL. Estas partículas tienen dos destinos: la mitad son captadas por el hígado y la otra mitad pierden la apo E y se convierten en LDL. Puesto que la apo E tiene más afinidad por el receptor LDL que la apo B-100, las partículas de LDL se mantienen en el torrente sanguíneo más tiempo que las IDL. Así mientras que las IDL tienen una vida inferior a las 6h, las LDL permanecen unas 60 h sin unirse a sus receptores. Por ello las LDL son las principales transportadoras de colesterol en la sangre y regulan la síntesis de novo del colesterol en estos lugares.

Por otro lado las HDL se encargan de transportar el colesterol sobrante en los tejidos periféricos hacia el hígado. Captan el colesterol liberado en el plasma, procedente del recambio de las membranas y de las células que mueren, y lo llevan al hígado, donde una parte es degradado y excretado en forma de sales biliares y el resto vuelve a salir a la circulación vía VLDL o LDL. Así, en resumen, el hígado es el principal lugar de control del metabolismo lipoprotéico ^{1:127}.

La LDL es una partícula de 18 a 26 nm de tamaño, con una densidad de 1.006-1.063 kg/L y una masa molecular de 2.5 millones ^{90;129}. Esta partícula se origina en el plasma y se elimina por captación celular. Su función es el suministro de colesterol a los tejidos a través de la endocitosis, regulada por los receptores de LDL tanto en tejidos hepáticos como extra hepáticos. Su vida media es de 2.5 a 3.5 días. Aproximadamente del 60 al 70% del colesterol total es transportado por las LDL. Un 60% de las LDL es catabolizado vía receptor y el resto es catabolizado por otras vías donde no

intervienen receptores, por lo que la depuración de LDL del plasma es llevado a cabo, en parte, a través de la acción del receptor de las LDL por células del hígado y células periféricas ¹. Una gran parte de su catabolismo es mediado por receptores del hígado. Cuando abunda el colesterol dentro de las células dejan de sintetizarse nuevos receptores, quedando bloqueada la incorporación de más colesterol procedente de las LDL y aumentando así, la concentración plasmática de éstas.

Cada familia de lipoproteínas comprende diversas poblaciones de partícula. En el caso de las LDL se han identificado diferentes subclases de acuerdo a su tamaño. Se observa una relación inversa entre la concentración de triacilgliceroles y el tamaño de partícula de la LDL ¹. Las partículas más pequeñas y densas son más susceptibles a la oxidación que las más grandes y flotantes y van asociada a un perfil lipídico caracterizado por niveles elevados de triacilglicéridos, VLDL e IDL y bajos niveles de HDL ^{127;130-134}.

En cuanto a su composición, esta partícula está formada por un 22-27% de proteínas, 73-78% de lípidos, de los cuales 40-50% es colesterol, a su vez, un 32 a 38 por ciento se encuentra este colesterol en forma esterificada (unas 1500 moléculas), mientras que de un 8 a 8.5% se encuentra en su forma no esterificada, 4 a 10% de triacilglicéridos y de un 15-26% de fosfolípidos. ^{118;135}. En la **Figura 8** se representa la composición de la LDL.

La superficie (54 por ciento de la partícula) está formada por 8% de colesterol, 27% de fosfolípidos y 19% de proteínas, mientras que el núcleo (46% de la partícula) está formado por 36% de colesterol y 10% de triacilglicéridos aproximadamente. La apoproteína que la acompaña es la B-100. En la **Figura 9** se representa una partícula LDL.

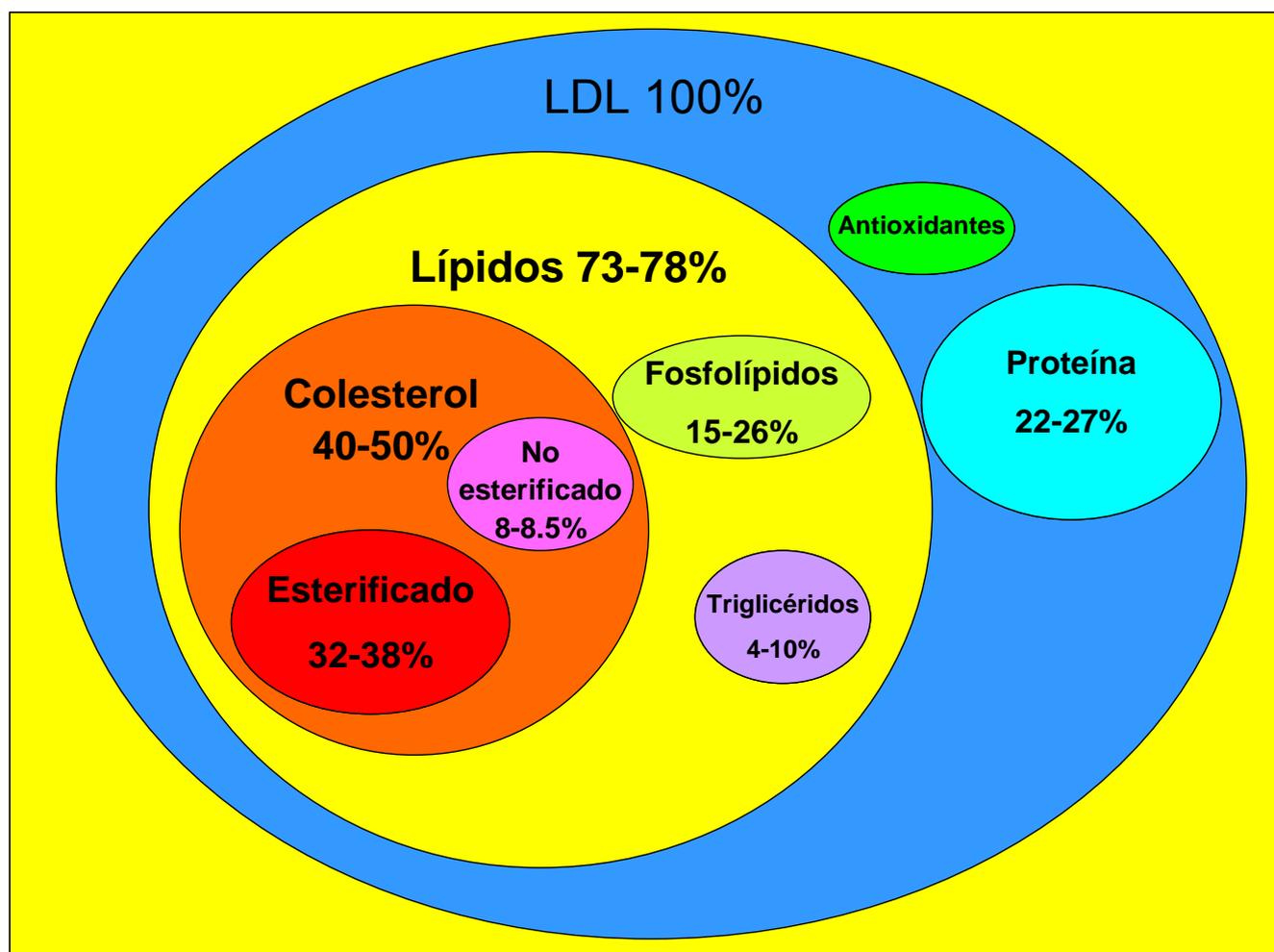


Figura 8. Composición de la LDL.

En cuanto a los ácidos grasos, una partícula de LDL contiene en su interior alrededor de 3600 ácidos grasos, siendo los AGPI los predominantes, siendo el ácido graso más frecuente el linoléico. Estos ácidos grasos van de 1350 a 1400 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de proteína aproximadamente, siendo un 55-60% de AGPI, 18-24% de AGMI y 21-27% de AGS ¹³⁵.

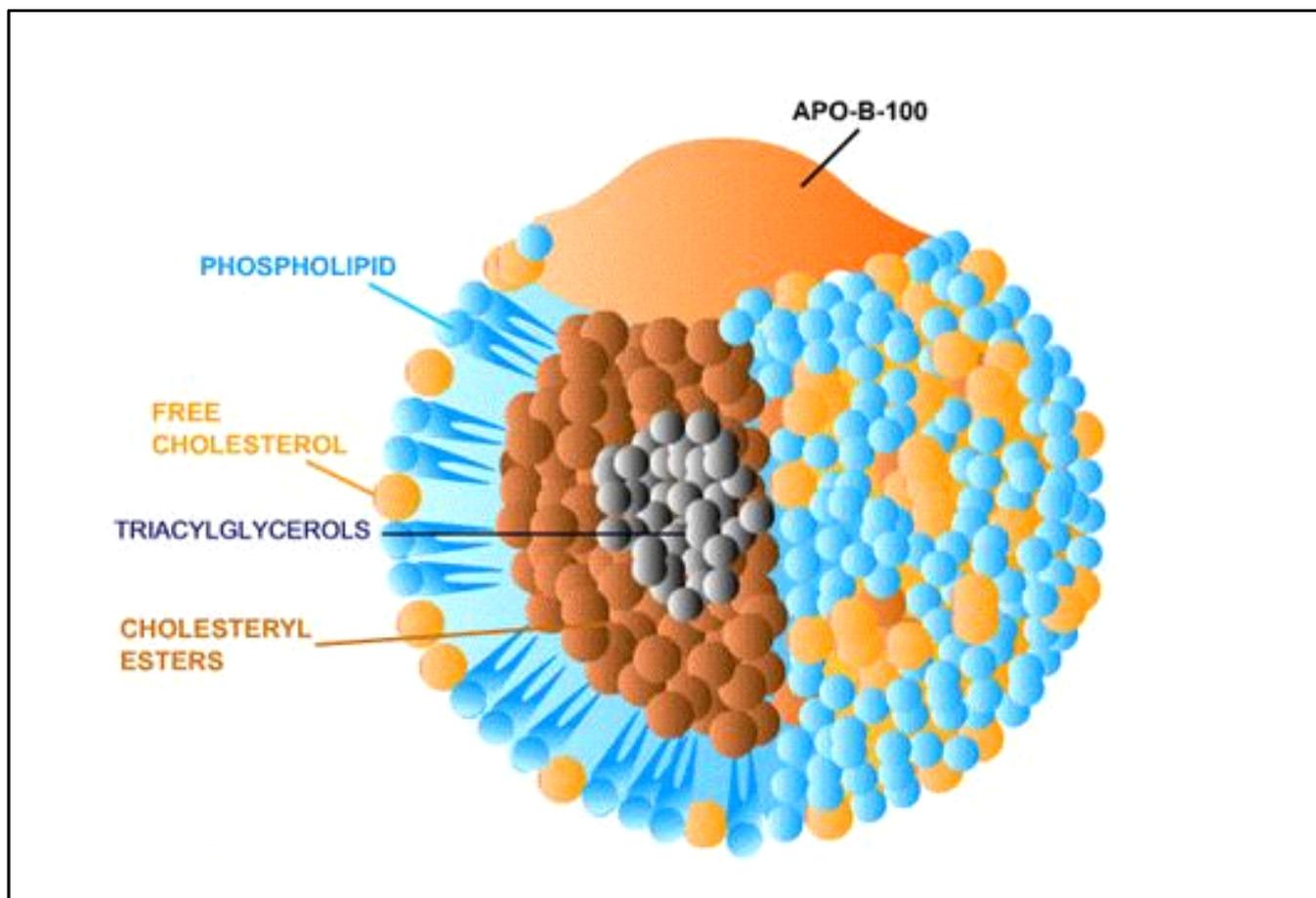


Figura 9. LDL y sus componentes.

A continuación, en la **Tabla 6.** se presenta la concentración de los ácidos grasos en LDL ^{129;130;136;137}.

De los antioxidantes contenidos, la vitamina E, se encuentra en una concentración de alrededor de 7.93 $\mu\text{g}/\text{mg}$ proteína ⁴¹, siendo el α -tocoferol el que se encuentra en mayor concentración, con una estimación de 6 moléculas en cada partícula ⁹⁰. La concentración de compuestos fenólicos totales es de aproximadamente de 6.61 $\mu\text{g}/\text{mg}$ proteína, expresado como catequina y rutina ³¹. Otros componentes de la LDL que se han descrito en la bibliografía son el β -caroteno, α -caroteno, licopeno, criptoxantina, cantaxantina, luteína, fitoflueno y ubiquinol-10 ^{130;135;138}.

Tabla 6. Concentración de ácidos grasos en LDL ^{129;130;136;137}.

Acido graso	Porcentaje aproximado
C14:0 (mirístico)	0.5-0.8
C16:0 (palmítico)	22.0-26.0
C16:1 n-7 (palmitoleico)	1.0-1.7
C18:0 (esteárico)	5.2-12.0
C18:1 n-9 (oleico)	15.0-24.0
c18:2 n-6 (linoleico)	30.0-48.0
C18:3 n-3 (alfa-linolénico)	0.35-0.45
C20:3 n-6 (eicosatrienóico)	2.4-2.8
C:20:4 n-6(araquidónico)	5.0-9.0
C20:5 n-3 (eicosapentaenóico)	0.5-0.7
C22:5 n-3 (docosapentaenóico)	0.5-0.8
C22:6 n-3 (docosahexaenóico)	2.0-2.5

Hay pocos estudios sobre la presencia de compuestos fenólicos y sus metabolitos en la LDL. Urpi, M *et al* 2005, estudian la presencia de metabolitos de resveratrol en LDL después de un consumo moderado de vino. Los metabolitos identificados fueron (pmol/mg proteína): *trans*-resveratrol-3-*O*-glucurónido (2.08-278.32), *cis* resveratrol-3-*O*-glucurónido (3.78-12.18), *cis* resveratrol-3-*O* glucósido (no cuantificable) y *trans*-resveratrol (1.43-8.76) ¹³⁹.

Bonanome, *et al* 2000, estudian los valores de hidroxitirosol y tirosol en LDL después del consumo de aceite de oliva virgen, encontrando una variabilidad muy grande entre los sujetos, sin embargo, en este estudio no se determina la presencia de las formas conjugadas de ambos compuestos fenólicos, ya que se realiza una hidrólisis ácida previa para determinarlos en formas no conjugadas.

3. Efecto biológico del aceite de oliva

3.1. Dieta mediterránea

Actualmente la esperanza de vida más alta se encuentra alrededor del Mediterráneo, siendo España y Francia los países que tienen los índices más bajos de mortalidad por isquemia cardiaca y accidentes cerebrovasculares ^{4;25;140}.

El interés por la identificación de constituyentes bioactivos de la dieta mediterránea ha ido creciendo día a día y numerosos estudios de intervención han aportado valiosas pruebas sobre su beneficio para la salud ^{111;141}. Actualmente distintas organizaciones nacionales e internacionales relacionadas con la salud recomiendan la adopción de un patrón dietético similar a la dieta mediterránea tradicional, ya que la comunidad científica en general reconoce ampliamente los beneficios a la salud de esta alimentación, por su relación con el incremento de la esperanza de vida y con la disminución de la aparición de enfermedades crónico-degenerativas, principalmente en relación al riesgo cardiovascular y cáncer ^{13;14;30;111}.

La dieta mediterránea es aquella que se corresponde con los patrones alimentarios propios de los países mediterráneos de hace 50 años. Aunque existen distintas variantes de la misma, se puede hablar de varios componentes comunes, entre ellos, un alto consumo de cereales, legumbres, verduras y hortalizas, frutos frescos y secos, acompañado de consumo moderado de pescado, carne de aves, leche y sus derivados, un menor consumo de carnes rojas, siendo la fuente mayor de grasas el aceite de oliva y una de las bebidas alcohólicas mayoritariamente consumida el vino tinto, normalmente acompañando las comidas. Además se incluye el consumo de alimentos de temporada, frescos, cultivados de forma local y mínimamente procesados. Esta dieta contiene un total de grasa del 33 al 40% de la energía total consumida, del cual del 16-19% son AGMI, menos del 7% AGPI y menos del 8 % lo comprenden los ácidos grasos saturados (AGS) ^{9;25;111;142;142}.

En la **Figura 10** se presenta una pirámide esquemática del patrón de la dieta mediterránea.

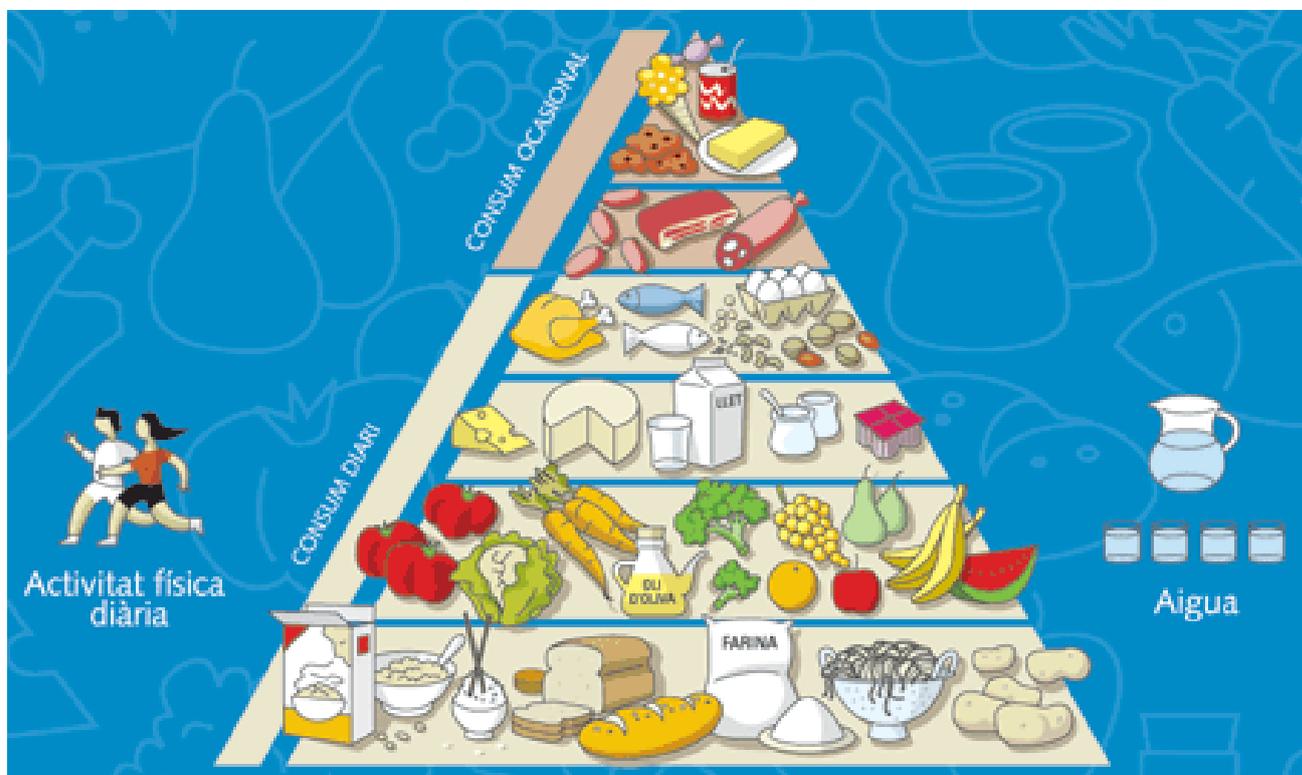


Figura 10. Pirámide esquemática del patrón de la dieta mediterránea (esquema realizado por la Generalitat de Catalunya).

Se reconocen como biofactores de esta dieta el alto consumo de ciertos micronutrientes, entre ellos antioxidantes comprendidos por algunas vitaminas (vitamina C, carotenoides y tocoferoles) y compuestos fenólicos, y por otro lado el alto consumo de AGMI proveniente del aceite de oliva ^{13-15;33;91;143} que en conjunto generan un efecto sinérgico, ya que existe una especial relevancia en la evidencia epidemiológica de la relación de los beneficios a la salud y el consumo específico de frutas, verduras, vino tinto y aceite de oliva ^{13;95;144}.

3.2. Aceite de oliva y salud

Desde la antigüedad, se ha considerado al aceite obtenido del fruto del olivo como un alimento con propiedades medicinales. El aceite de oliva es una fuente de AGMI y cientos de micronutrientes, especialmente antioxidantes como compuestos fenólicos, tocoferoles y carotenos, por lo que los efectos beneficiosos del aceite de oliva, incluyen los proporcionados por sus componentes lipídicos y no lipídicos ^{14;19;142;145-147}. En este apartado se hablará de los diferentes componentes del aceite de oliva virgen, poniendo especial énfasis en la relación con la prevención del riesgo cardiovascular.

3.2.1. Ácidos grasos mono-insaturados

El aceite de oliva, por ser una fuente rica de ácido graso oleico se vincula con los efectos beneficiosos para la salud que aporta el consumo de este ácido graso.

En primer lugar, el consumo de aceite de oliva se vincula con un perfil lipídico de menor riesgo para padecer enfermedades cardiovasculares y confiere un poder atenuante de los efectos plasmáticos agudos postprandiales. Muchos estudios han demostrado que cuando se sustituyen los AGS por AGMI, estos tienen un efecto hipocolesterolémico, reduciendo los valores de LDL, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), aumentando la depuración de la apo B. Así mismo, reduce los valores de triacilglicéridos e incrementan los valores de HDL y apolipoproteína A-I. El consumo de aceite de oliva aumenta la ingestión de AGMI, sin elevación significativa de las AGS y asegura un consumo apropiado de AGPI esenciales. El mejoramiento del perfil lipídico, supera el logrado durante la realización de dietas altas en hidratos de carbono y dietas altas en AGPI. ^{12;14;15;28;29;148-151}.

Se ha demostrado también que el consumo de aceite de oliva virgen mejora la estabilidad oxidativa del plasma por el contenido de AGMI y

antioxidantes que contiene el aceite. ^{9;14;15;17;110;140;152} y aumenta la resistencia a la oxidación de las LDL ^{10;12;18;20;25;153;154}.

Por otro lado, las células endoteliales secretan múltiples metabolitos que intervienen en procesos de coagulación, fibrinólisis, proliferación, inflamación y en procesos relacionados a la adhesión y migración transendotelial de células circulantes en la pared vascular como la VCAM-1, molécula 1 de adhesión intercelular (ICAM-1), NF- κ B, y P-selectina por mencionar algunos. Varios estudios sugieren que los AGMI modulan el efecto aterogénico ya que afectan a diferentes componentes de la pared arterial interfiriendo con la activación de los factores de transcripción o en algún punto de su ruta metabólica ^{155;156}. Se ha concluido que la dieta mediterránea rica en AGMI reduce la síntesis de células musculares lisas, factores relacionados con trombosis como el factor VII (FVII) ⁹, inhibe la adhesión de monocitos en el endotelio ¹⁵⁰ y reduce procesos inflamatorios ^{157;158}, ya que se ha demostrado la disminución de marcadores de dicho proceso ¹⁵⁹, entre ellos la liberación de interleucinas ^{156;160}.

Se ha postulado también que los AGMI del aceite de oliva son responsables del estímulo de la secreción de hormonas implicadas en el metabolismo de los lípidos en la fase postprandial ¹⁴⁸. Además, una dieta alta en AGMI mejora la intolerancia a la glucosa y los niveles de insulina en plasma ^{14;28}.

Se puede decir en resumen que muchos estudios han demostrado que cuando se sustituyen los AGS por AGMI, el perfil lipídico plasmático mejora considerablemente ^{14;15}. Los AGMI tienen influencia también en otros riesgos cardiovasculares como el metabolismo de los hidratos de carbono, la presión arterial, la coagulación, el proceso de fibrinólisis, y la función endotelial ^{14;150}.

3.2.2. Escualeno

Entre los componentes minoritarios del aceite de oliva con propiedades biológicas, el escualeno, triterpeno y producto intermedio de la vía

biosintética del colesterol, lejos de promover el aumento de este último compuesto, tiene una potente capacidad para inhibir la actividad de la β -hidroxi- β -metilglutaril-Co A reductasa, enzima relacionada con la síntesis del colesterol. También se describen otros efectos anti-aterogénicos como la inhibición de la proliferación de las células lisas ¹⁶¹. El escualeno tiene relación con una baja incidencia de cáncer. Esta protección puede estar dada por el papel en ciertos mecanismos de biosíntesis y de señalización en las células, modulando la expresión de genes y previniendo el daño al ADN inducido por especies reactivas del oxígeno ^{14;162}. En modelos animales, parece ser que el escualeno desempeña un papel importante en la salud ocular, además, según han informado diversos grupos, los animales que han ingerido escualeno poseen mayor capacidad de excreción de toxinas ¹⁶².

3.2.3. Esteroles

Los fitosteroles son moléculas de origen vegetal, que por su similitud a la estructura del colesterol, compiten en intestino por la absorción con este compuesto, son secuestradores de ácidos biliares en intestino e inhiben la actividad de la acil-coenzima A colesterol acil-transferasa por lo que entorpecen la absorción de éste y por lo tanto reducen los niveles de colesterol plasmático ^{14;163}. El fitosterol más abundante en el aceite de oliva es el β -sitosterol ¹⁴.

El β -sitosterol es responsable en parte de los efectos cardioprotectores del aceite de oliva. Esta molécula mejora el ratio GSH/GSSG e incrementan la actividad de la SOD *in vitro* por medio de la estimulación de rutas enzimáticas, dado que el β -sitosterol tiene la capacidad de ser reconocido por receptores celulares específicos e interviene en la ruta metabólica estrógeno/fitofatidilinositol 3-quinasa, lo que reduce la producción de radicales libres en el sistema ¹⁶⁴.

Los fitosteroles actúan también como agentes antitumorales, especialmente con cáncer de próstata, colon, mama y estómago ¹⁶². Por otro lado, el β -

sitosterol contenido en el aceite de oliva modula la actividad de los enzimas antioxidantes y por lo tanto protege contra el estrés oxidativo ¹⁶⁴.

3.2.4. Vitaminas liposolubles: carotenoides y tocoferoles

Estas sustancias pueden desempeñar un papel importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares, cáncer y envejecimiento precoz por conferir protección frente al daño oxidativo. En especial los tocoferoles además de proteger frente a la oxidación a las LDL, se han relacionado con la inhibición de la agregación plaquetaria, parecen ejercer también efectos directos en la expresión de genes como las moléculas de adhesión, lipooxigenasas y proteinquinasa C ¹⁶⁵, inhibición de la proliferación de células musculares lisas y secreción de interleucina-1 β ¹⁶⁶, por lo que la vitamina E puede ejercer efectos positivos por medio de distintos mecanismos ¹⁴. Los estudios en humanos han puesto de manifiesto que unos niveles séricos o plasmáticos bajos de vitamina E están asociados a un mayor riesgo de cáncer de pulmón, cuello uterino y próstata ¹⁶².

3.2.5. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos actúan como defensa ante la peroxidación lipídica y disminuyen el estrés oxidativo. Se ha demostrado también que además de su capacidad antioxidante, están relacionados con otros procesos metabólicos. Su papel en la prevención de enfermedades crónico-degenerativas, principalmente cáncer y enfermedades cardiovasculares han sido demostradas en muchos modelos experimentales ^{14;19;124;161;167-172}.

En la **Figura 11** se presenta un esquema de las diferentes funciones de los componentes del aceite de oliva en relación al riesgo cardiovascular ¹⁵⁷.

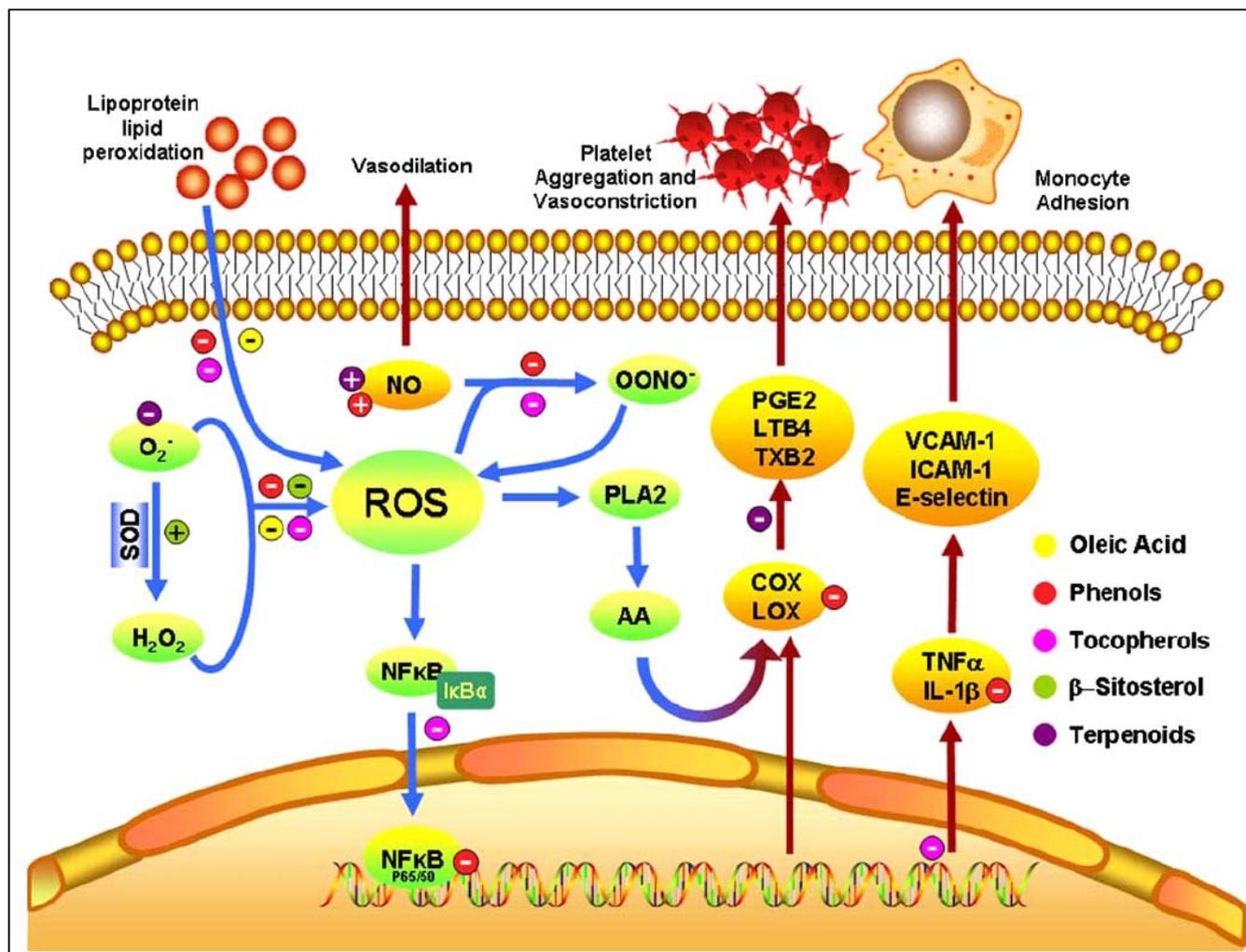


Figura 11. Diferentes funciones de los componentes del aceite de oliva en relación al riesgo cardiovascular ¹⁵⁷.

En general, el consumo de aceite de oliva permite preservar la función celular y su metabolismo con un menor nivel de producción de radicales libres que pueden afectar principalmente a nivel de ADN, mitocondrial, membranal, y confiere una estabilidad oxidativa, por lo que una dieta en la cual el aceite de oliva sea la principal fuente de grasa, puede ser una herramienta útil contra los factores de riesgo para las enfermedades cardiovasculares y otras patologías ²⁵.

Actualmente se reconoce que el aceite de oliva virgen tiene mayores beneficios para la salud que el aceite de oliva común por su alto contenido

en compuestos fenólicos y que los resultados son más efectivos con el aceite de oliva que con sus componentes por separado ^{15;173;174}.

3.2.2.1. Absorción y metabolismo de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son abundantes en el reino vegetal y por lo tanto en nuestra dieta. Se ha demostrado la biodisponibilidad de una amplia gama de compuestos fenólicos y se conocen algunos mecanismos de conjugación intestinal y hepática ¹⁷¹.

La absorción de compuestos fenólicos a través de la membrana epitelial del intestino humano, presenta distinciones entre los aglicones, glucósidos y formas poliméricas ¹⁷⁵. Ni los glucósidos ni las formas diméricas o poliméricas de los compuestos fenólicos (procianidinas) son hidrolizadas a nivel gástrico, por lo que llegan intactos al intestino delgado.

Los aglicones atraviesan las células intestinales por medio de un transportador anión multi-específico ¹⁷⁶, sin embargo otros estudios revelan que su absorción en el intestino delgado se lleva a cabo por difusión pasiva ¹⁷⁷, mientras que las procianidinas poliméricas, por su alto peso molecular son escasamente absorbidas ¹⁷⁵.

Algunos glucósidos, interactúan con transportadores de glucosa sodio-dependientes en el intestino, con incremento en su absorción comparados con aglicones. Una vez dentro de las células intestinales, son hidrolizados por la β -glucosidasa. Una segunda hipótesis en la absorción de estos glucósidos ha sido propuesta: la lactasa florizin hidrolasa, puede actuar también hidrolizando el glucósido y permitiendo la liberación del aglicón para ser absorbido por difusión pasiva ¹⁷⁵.

La variabilidad inter-individual observada en la actividad de estas dos enzimas puede ser uno de los factores que explica la alta variabilidad en el porcentaje de compuestos fenólicos absorbidos que han sido publicados ¹⁷⁸.

Los compuestos fenólicos que no son absorbidos a través de la barrera del intestino, principalmente procianidinas, alcanzan el colon, donde pueden interactuar con la microflora del intestino. Esta cataliza el rompimiento de estos compuestos en moléculas más simples, produciendo ácidos fenólicos de bajo peso molecular, los cuales son más biodisponibles, y pueden ser bien absorbidos a través del colon o tener un efecto local antioxidante en el colon ¹⁷⁵.

Algunos ácidos hidroxicinámicos pueden ser esterificados en el intestino y disminuir de esta manera la absorción de estos compuestos. Las concentraciones de compuestos fenólicos en el colon pueden alcanzar varios cientos de micro moles por litro y junto con los carotenoides son los únicos antioxidantes que se encuentran en este lugar, ya que vitaminas C y E son absorbidos en el intestino delgado.

La biodisponibilidad de algunos compuestos fenólicos es de un 15-55%. Por lo que sólo una cantidad parcial de los compuestos fenólicos provenientes de la dieta es absorbida. Sin embargo, estas bajas concentraciones parecen ser suficientes para ejercer una potente actividad metabólica ¹²⁴. Además, en el intestino los enzimas bacterianas, especialmente la β -glucoronidasa puede actuar sobre ellos para que puedan ser reabsorbidos. Este reciclamiento puede permitir una presencia de más cantidad de los compuestos fenólicos en el organismo. Sin embargo, se ha visto que el proceso que se lleva a cabo en el intestino varía de acuerdo a la composición de la microflora, ocasionando variaciones interindividuales grandes en los estudios ¹⁷¹.

En cuanto al metabolismo de los compuestos fenólicos en general, durante el proceso de absorción, éstos pueden ser conjugados en el intestino delgado y/o posteriormente en el hígado. Esto incluye la metilación, sulfatación y glucuronidación, lo cual suele facilitar la eliminación por bilis y orina ¹²⁴. Por lo general, la circulación de fenoles se da por medio de derivados conjugados capaces de unirse a la albúmina. Compuestos

glucosilados sólo se han encontrado en trazas en orina ¹⁷¹. Las antocianinas son una excepción, ya que glucósidos intactos son los que circulan mayoritariamente ¹⁷².

La metilación suele llevarse a cabo por la catecol-*O*-metil-transferasa, la cual cataliza la transferencia de un metil del S-adenosil-*L*-metionina. Dicha enzima se encuentra en una amplia gama de órganos, principalmente en hígado y riñón, sin embargo también puede llevarse a cabo en intestino. La metilación generalmente ocurre en la posición 3' del fenol o en menor proporción puede producirse un compuesto 4'-*O*-metilado ¹⁷¹. La metilación se ha descrito para el ácido caféico, quercetina, catequina, epigallocatequina, luteolina ¹⁷¹, hidroxitirosol ^{169;179} y ácido homovainílico ¹⁷⁹.

Las sulfotransferasas catalizan la transferencia del grupo sulfato del 3'-fosfoadenosine-5'-fosfosulfato a un grupo hidroxilo de diferentes substratos, entre ellos los compuestos fenólicos, esto ocurre principalmente en el hígado. La sulfatación es bien conocida para los ácidos *p*-cumárico, vainílico, ferúlico, isoferúlico y sinápico, kaempferol ¹⁷², tirosol ¹⁸⁰, hidroxitirosol ^{179;180} y quercetina ¹⁷¹.

Las uridín difosfato (UDP)-glucuronosiltransferasas están en la membrana del retículo endoplasmático de varios tejidos. Catalizan la transferencia de un ácido glucurónico proveniente del UDP-glucurónico a esteroides, ácidos biliares, compuestos fenólicos y otros xenobióticos. Esto ocurre principalmente en el enterocito (intestino) Cerca de 15 isoformas de glucuronosiltransferasas han sido identificadas en humanos. La glucuronidación es bien conocida para los ácidos *p*-cumárico, vainílico, sinápico, ferúlico, kaempferol, quercetina ¹⁷², tirosol ^{169;181} e hidroxitirosol ^{179;180}.

Posteriormente a esto, es posible que estos compuestos sufran una reconjugación, incluyendo una deglucuronidación, seguida de una sulfatación, como se ha demostrado en el caso de la quercetina. Existe un

conjunto complejo de de enzimas relacionadas que forman un sistema de regulación para la producción y liberación de varios metabolitos de compuestos fenólicos, lo que afecta el sitio de acción y la interacción con otros compuestos. En general, se ha demostrado también que el balance entre sulfatación y glucuronidación esta afectado por el sexo, especie y ciertas privaciones alimenticias entre otros factores ¹⁷¹.

Los mecanismos de conjugación son altamente eficientes y los aglicones libres se encuentran en muy pocas concentraciones en sangre, excepto las catequinas provenientes del té. Fuera de estos compuestos en específico no existen aglicones libres a menos que se saturen los sistemas enzimáticos.

Como se puede observar, los compuestos fenólicos están sujetos a un extensivo metabolismo hepático/intestinal en el organismo humano ^{33;179;182-186} y el compuesto final determinará la actividad biológica.

Existen varios estudios que demuestran la absorción y biodisponibilidad de los principales compuestos fenólicos del aceite de oliva en humanos y animales ^{18;110;169;170;180;187-196}.

La oleuropeína, ligstrósido y sus derivados son hidrolizados rápidamente a hidroxitirosol para ser absorbido en el intestino ^{169;188;189;192}. Esta hidrólisis está llevada a cabo por las condiciones ácidas en el tracto intestinal, o bien por hidrólisis enzimática ^{188;197;198} El sistema de transporte del tirosol e hidroxitirosol no es saturable y ocurre principalmente en el intestino delgado por mecanismos de difusión pasiva ^{33;169;170;193-195;199}. Los niveles absorbidos de hidroxitirosol y tirosol están directamente correlacionados con su consumo ^{179;187;200-202}. De hecho estos compuestos son absorbidos más rápidamente que los antioxidantes lipofílicos como la vitamina E ¹⁰ y su absorción no se ve afectada por la presencia de otros fenoles ¹⁷⁰. La oleuropeína como tal, es pobremente absorbida en rata, y el mecanismo de acción se desconoce aunque se piensa que puede ser debido a un transporte transcelular o bien un movimiento paracelular ¹⁹¹ El hidroxitirosol que se absorbe es aproximadamente de un 90% de hidroxitirosol y tirosol es

absorbido rápidamente en rata ^{182;193;194} y se estima que al menos un 55-66% de los compuestos fenólicos del aceite de oliva son absorbido en humanos ¹⁸⁰. La absorción de estos compuestos fenólicos es mayor cuando se encuentran en su vehículo natural, que en otros medios ^{189;193}.

En general las tres conjugaciones primordiales que se llevan a cabo en compuestos fenólicos del aceite de oliva son la metilación, sulfatación y glucuronidación. Además estos compuestos también pueden pasar por procesos de oxidación, en los cuales se ven implicadas las enzimas alcohol y aldehído deshidrogenasa. ¹⁸². En la literatura se reporta el hidroxitirosol y tirosol en formas libres en pocas cantidades ^{179;192;203}, así que sólo un pequeño porcentaje son excretados en dicha forma (aproximadamente un 6% y 11% para el hidroxitirosol y tirosol respectivamente) ^{187;204}. Aunque la metilación, sulfatación y glucuronidación se puede llevar a cabo tanto en intestino como en hígado, la glucuronidación y metilación es importante en intestino, mientras que la sulfatación se lleva principalmente en hígado ^{170;182;183}. D'Angelo, tras encontrar metabolitos en tejidos animales (hígado, riñón, cerebro y músculo), postula que estos metabolitos podrían ser generados dentro de las células de diferentes tejidos y células sanguíneas ¹⁸². Sin embargo se sabe muy poco sobre la captación celular de los metabolitos de compuestos fenólicos en las diferentes células. Se conoce que a pH fisiológico la mayoría de los compuestos fenólicos interactúan con la cabeza polar del grupo de fosfolípidos, lo que puede limitar el acceso de oxidantes a las células. Por otro lado, se piensa que ellos están asociados a las lipoproteínas sólo por interacciones iónicas con cargas residuales en la superficie de las partículas. Se ha demostrado también que los derivados más lipofílicos pueden ser capaces de esterificarse con ácidos grasos en el plasma, pero este hecho requiere mayores estudios a realizar ¹⁷¹.

En la **Figura 12**, se presenta un esquema de la absorción y metabolismo de los principales compuestos fenólicos del aceite de oliva.

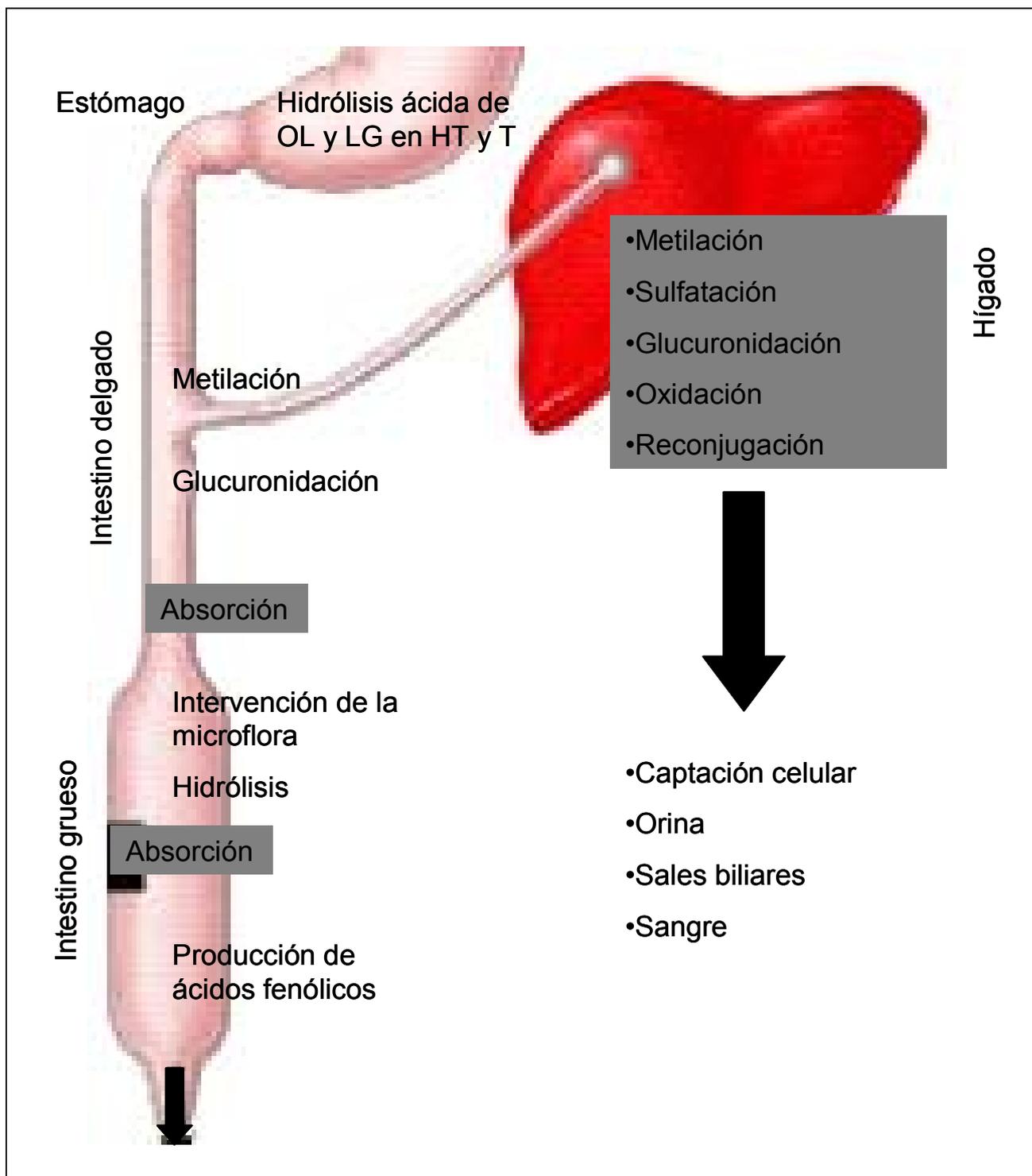


Figura 12. Absorción y metabolismo de los compuestos fenólicos del aceite de oliva.

En ciertas ocasiones, en estudios de biodisponibilidad, se determina la presencia de hidroxitirosol, tirosol y ácido homovainílico después de su hidrólisis ácida o enzimática, sin embargo, al hidrolizar, se desconoce el

perfil de los metabolitos iniciales ^{33;110;205;206}. Aunque existen pocos datos al respecto, se estima que en humanos, aproximadamente un 65% de los metabolitos del aceite de oliva se presentan en forma glucuronidada y el otro 35% en otras formas en plasma ²⁰⁷.

Los metabolitos de los fenoles del aceite de oliva que se han encontrado en fluidos o tejidos biológicos se presentan en la **Tabla 7**, mientras que en la **Figura 13** se pueden apreciar las formas químicas.

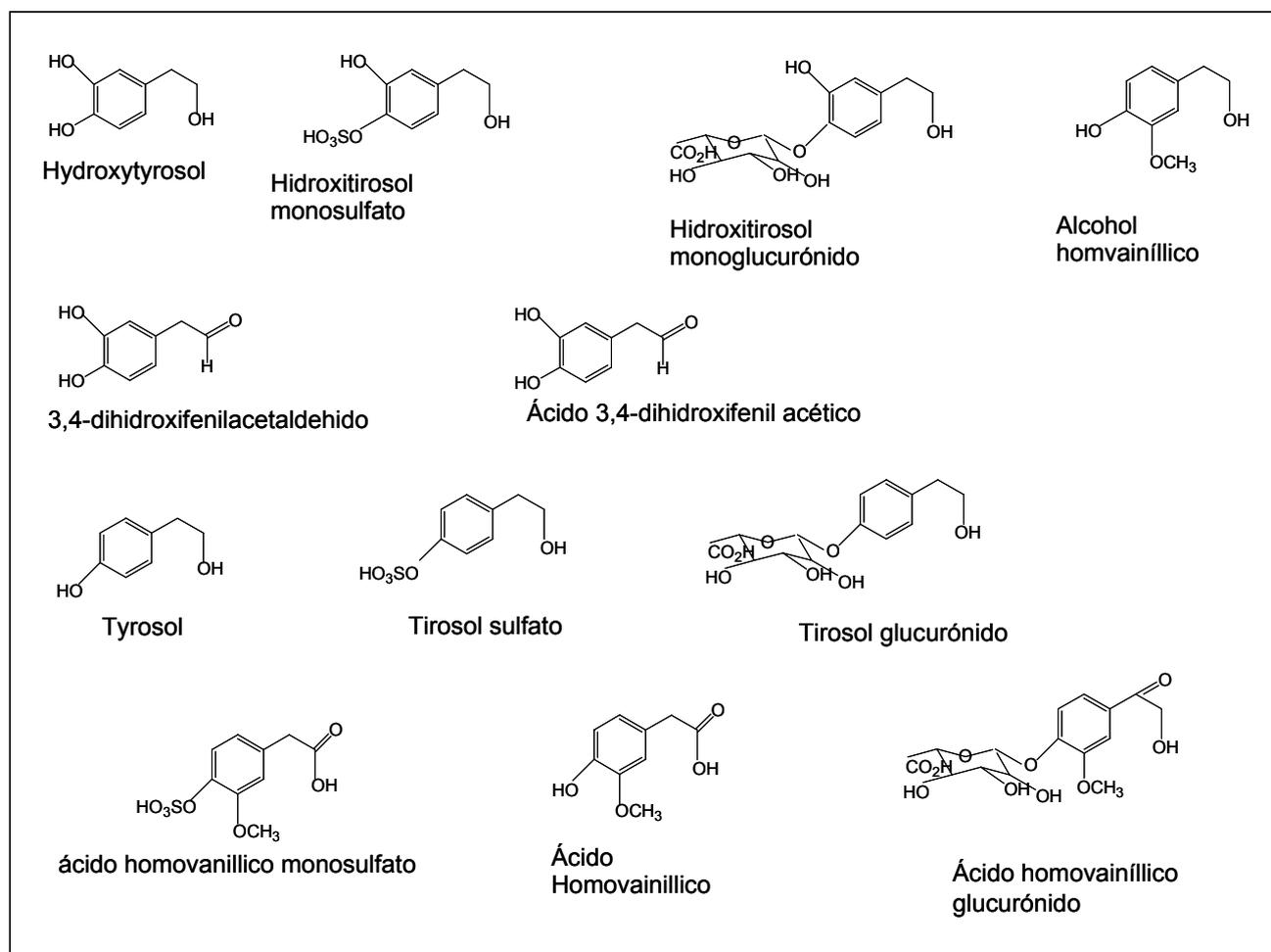


Figura 13. Formas químicas de los metabolitos de compuestos fenólicos del aceite de oliva encontrados en la bibliografía.

La vida media en sangre de compuestos fenólicos no ha sido ampliamente estudiada, pero se tienen algunos datos: se estima que es de aproximadamente 2 horas para algunos antocianos ¹⁷², de 2-3 horas para

los flavonoles, de 4-8 horas para las isoflavonas, de 11-28 horas para la quercetina.^{124;171}, de 5-8 horas para el tirosol²⁰⁸, de 3-8 horas para la naringina y sus metabolitos²⁰⁹ y de 2.5 para el hidroxitirosol²¹⁰.

Las cantidades medias encontradas máximas en plasma (después del consumo) de compuestos fenólicos, las cuales varían de acuerdo a la naturaleza del compuestos fenólicos y a la fuente alimenticia, pueden alcanzar unos 0.1-0.75 $\mu\text{mol/L}$ en equivalentes de quercetina.¹⁷¹. De la misma manera, los compuestos fenólicos más abundantes en nuestra dieta, no son necesariamente aquellos que tienen el mejor perfil de biodisponibilidad.

Existen muchas variaciones interindividuales de las cantidades encontradas de diferentes metabolitos de compuestos fenólicos del aceite de oliva en plasma y orina²¹¹. Miro *et al* 2001 encuentran en orina, tras la ingesta de 50 mL de aceite de oliva virgen en ayunas, unos valores totales de 847.7 μg (SD=359) para el hidroxitirosol y valores totales de 238 μg (SD=105) para el tirosol durante las 24 horas tras su ingesta, siendo la mayor acumulación de estos compuestos en la orina recopilada de las 0-4 horas y de las 5-8 horas²¹². Posteriormente, estos mismos autores observan valores máximos de 25.83 $\mu\text{g/L}$ (SD=12.96) para el hidroxitirosol y 3.94 $\mu\text{g/L}$ (SD=2.13) para el alcohol homovainílico en plasma tras la ingesta de 25 mL de aceite de oliva. El tiempo medio que permanecen estos metabolitos en sangre es de 2.5 y 1.35 horas para el hidroxitirosol y el alcohol homovainílico respectivamente y los picos de mayor concentración en plasma están entre las 0.58 y 0.88 horas para el hidroxitirosol y alcohol homovainílico respectivamente.

El ácido homovainílico e hidroxitirosol pueden provenir de otras fuentes y son metabolitos comúnmente conocidos del metabolismo de la dopamina^{170;180;186;213;214}, por lo que no es extraño encontrar estos compuestos en muestras basales^{169;215-217}.

Tabla 7. Compuestos metabólicos de los fenoles del aceite de oliva que se han encontrado en fluidos o tejidos.

METABOLITO O COMPUESTOS FENÓLICOS	MUESTRA	SUSTRATO PROPORCIONADO (TIPO DE ESTUDIO)	REFERENCIA
<ul style="list-style-type: none"> • Alcohol homovainílico • Ácido homovainílico 	Orina humana	hidroxitirosol y aceite de oliva (<i>in vivo</i>)	186
<ul style="list-style-type: none"> • Derivados sulfatados • 3-4-dihidroxifenilacetaldehído • Ácido 3,4-dihidroxifenilacético • Alcohol homovainílico • Ácido homovainílico 	Plasma, orina y tejidos de rata: músculo esquelético, riñón, hígado, pulmón, corazón y cerebro.	hidroxitirosol (oral e intravenoso) (<i>in vivo</i>)	182
<ul style="list-style-type: none"> • Hidroxitirosol monoglucurónido • Hidroxitirosol monosulfato • Ácido acético 3,4-dihidroxifenil • Alcohol homovainílico • Ácido homovainílico • Ácido homovainílico glucurónido • 3,4-dihidroxifenilacetaldehído 	Orina de rata	hidroxitirosol (oral e intravenoso) (<i>in vivo</i>)	179;199
<ul style="list-style-type: none"> • Alcohol homovainílico 	Células caco-2 (células intestinales humanas)	hidroxitirosol (<i>in vitro</i>)	218

Introducción

METABOLITO O COMPUESTOS FENÓLICOS	MUESTRA	SUSTRATO PROPORCIONADO (TIPO DE ESTUDIO)	REFERENCIA
<ul style="list-style-type: none"> • Alcohol homovainílico • hidroxitirosol glucurónido 	Orina y plasma humano	Aceite de oliva.	219
<ul style="list-style-type: none"> • Hidroxitirosol monoglucurónido • Oleuropeína monoglucurónida • Oleuropeína 	Plasma y Orina de Rata	Oleuropeína en forma oral	194
<ul style="list-style-type: none"> • Hidroxitirosol glucurónido • Ácido homovainílico glucurónido • Alcohol homovainílico • Tirosol glucurónido • Hidroxitirosol acetato glucurónido 	Células Hep G2 humanas	Estudio <i>in vitro</i>	183
<ul style="list-style-type: none"> • Alcohol homovainílico • Hidroxitirosol monoglucurónido • Tirosol glucurónido • Hidroxitirosol glutathionilado 	Células caco-2 (células intestinales humanas)	hidroxitirosol, tirosol y oleuropeína (<i>in vitro</i>)	188

El consumo estimado anual de compuestos fenólicos provenientes del aceite de oliva es de 9 g en Grecia, 7.5 g para Italia y 5.5 g para España ¹⁷⁹. Otra estimación realizada al respecto es que una dieta mediterránea rica en aceite de oliva provee de 10-20 mg de compuestos fenólicos por día ¹⁶⁹.

3.2.2.2. Actividades fisiológicas específicas relacionadas con el riesgo cardiovascular

Se ha observado que los compuestos fenólicos del aceite de oliva cubren una amplia gama de actividades metabólicas y por lo tanto tienen diferentes funciones en el organismo. Se han realizado diferentes investigaciones con diferentes líneas celulares, en las cuales se ha demostrado principalmente su capacidad antioxidante, el papel en la modulación de ciertas enzimas y en los procesos de señalización celular ^{145;161;174;220}, por lo que un alto consumo de compuestos fenólicos está relacionado con efectos benéficos en la salud, principalmente con disminución de incidencia de la enfermedad coronaria y ciertos cánceres ^{23;95;161;174;179}.

Además de su capacidad antioxidante, se ha demostrado la capacidad antitrombótica, antiaterosclerótica, hipoglicémica, antihipertensiva e hipocolesterolémica de los compuestos fenólicos del aceite de oliva ^{15;48;145;145;170;220;221}. Presentan una capacidad anti-inflamatoria, ya que los compuestos fenólicos del aceite de oliva están asociados a la modulación de funciones inmunológicas ¹⁴⁵. Estos compuestos también intervienen en la modulación de diferentes enzimas como la ciclooxigenasa (COX2) ^{23;48;145;145;170}. Como diferentes afecciones están íntimamente relacionadas con procesos inflamatorios, los compuestos fenólicos se relacionan con la prevención de estas afecciones, como son la artritis reumatoide, amiloidosis y el proceso aterosclerótico ^{161;222;223}.

Por otro lado, El efecto de algunos compuestos fenólicos del aceite de oliva sobre enzimas que intervienen en rutas específicas relacionadas con el metabolismo de proteínas, hidratos de carbono y lípidos, sugiriendo que pueden ser activadores de la digestión de proteína e inhibidores de la absorción de

lípidos ²²⁰. Esto también podría tener implicaciones en la disminución de la liberación ácidos grasos de la célula, y modular la transformación del glicerol.

En cuanto al efecto antioxidante, la acción de los compuestos fenólicos más ampliamente reconocida y estudiada, es su capacidad antioxidante. Los compuestos fenólicos pueden ejercer esta actividad fuera y dentro de las células de una manera directa o indirecta, siendo esta última, estimulando mecanismos de defensa endógenos. Dichos mecanismos están involucrados en una disminución de la oxidación de lípidos, oxidación de la LDL y la modificación de sus apoproteínas. En general los compuestos fenólicos del aceite de oliva incrementan la capacidad antioxidante del plasma y refuerza el sistema de defensa antioxidante endógeno, previniendo las consecuencias del deterioro de las células endoteliales ^{19;120;142;161}.

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos, está dada principalmente por su propiedad redox, es decir, que actúa como un agente reductor. Los compuestos fenólicos actúan, dependiendo de su estructura como donantes de hidrógeno, ya que los compuestos fenólicos estabilizan los radicales libres al ceder un hidrógeno de sus grupos hidroxilos ^{95;174}. En la **Figura 14** se presenta un diagrama de un posible mecanismo en la donación de hidrógeno en el caso del hidroxitirosol ¹⁷⁴.

Los compuestos fenólicos antioxidantes funcionan como estabilizadores de radicales libres y quelantes de iones metálicos como cobre y hierro por medio de una rápida donación de átomos de hidrógeno a los radicales como también es ilustrado en la siguiente reacción ^{95;124}, donde CFH representa el compuesto fenólico y ROOH el hidroperóxido:



El radical fenóxido intermedio es relativamente estable, por lo que no es fácil que se inicie una nueva reacción en cadena. Este radical fenóxido intermedio también actúa como terminador de la ruta de propagación reaccionando con otros radicales libres:

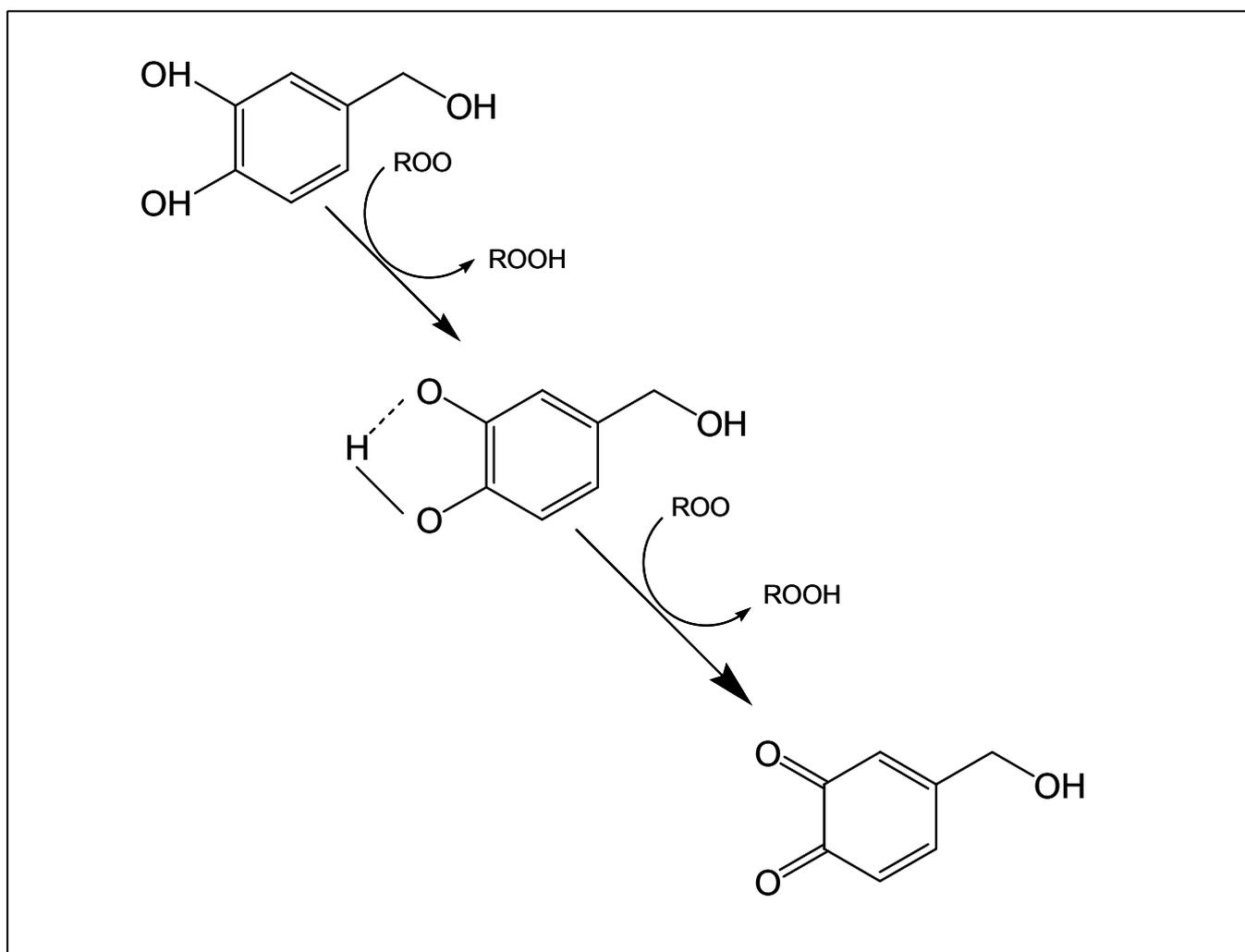


Figura 14. Modelo de acción antioxidante directa del hidroxitirosol.

Se ha demostrado el efecto antioxidante de los compuestos fenólicos, por su interacción con diferentes especies reactivas al oxígeno como el superóxido, hidroxilo y el radical peroxilo, lo cual impide los daños ocasionados por estas especies reactivas al oxígeno.

Los compuestos fenólicos del aceite de oliva, especialmente hidroxitirosol y oleuropeína tienen una gran actividad quelante de metales oxidantes muy fuerte, y una potente capacidad de estabilizar al anión superóxido y ácido hipocloro, el cual es un potente oxidante *in vivo* en los sitios de inflamación previniendo también de la formación de más especies reactivas al oxígeno ^{19;95;224}.

Por otro lado, se ha demostrado que los compuestos fenólicos del aceite de oliva están involucrados en la liberación de enzimas antioxidantes. Puede ser que estos compuestos fenólicos interactúen con receptores en la membrana para ocasionar un consecuente estímulo para la liberación de enzimas reductores en el medio, estimulando mecanismos endógenos indirectamente.

En relación a los compuestos fenólicos del aceite de oliva se ha observado una relación con la reducción de la activación de lipooxigenasas y en el estímulo del GSH y enzimas relacionadas, catalasa (CAT) y SOD. Se ha concluido que los compuestos fenólicos de la dieta pueden estimular la transcripción de antioxidantes y estimular el sistema endógeno de defensa, previniendo la acumulación de especies reactivas al oxígeno a través del mejoramiento del ciclo GSH redox ^{104;120;141;142;221}. A continuación se enumeran las acciones de los compuestos fenólicos del aceite de oliva en este sistema:

- 1) Incrementan la actividad de los enzimas antioxidantes GRed y GPx
- 2) Previenen procesos de oxidación en el macrófago y en la LDL.
- 3) Inhiben la producción de $O_2^{\bullet-}$ y H_2O_2 y la reducción del contenido en GSH.
- 4) Promueven la restauración de la GRed y la actividad de la GPx.
- 5) Restaura la expresión mRNA de γ GCS, GRed, y GPx
- 6) Estimula la transcripción y actividad de GPx, y GRed y GSH.

Son varios los estudios que demuestran la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del aceite de oliva en relación a la prevención del riesgo cardiovascular. En la **Tabla 8** Se encuadran el extracto de algunos estudios que se han llevado a cabo en los últimos años y los resultados obtenidos en cuanto a la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos.

Como se puede observar en el cuadro presentado, el aceite de oliva rico en compuestos fenólicos puede modificar positivamente los marcadores biológicos asociados con estrés oxidativo y cambios en el estatus oxidante/antioxidante. Un consumo moderado y mantenido puede proveer beneficios para incrementar la capacidad antioxidante en plasma y en el medio celular, lo cual se refleja en una disminución de indicadores de oxidación. Son varios ya los estudios que concluyen que el consumo diario de aceite de oliva, especialmente el virgen puede reducir la susceptibilidad de la oxidación de la LDL y prevenir así el riesgo cardiovascular.^{15;17;25;111;113;116;225.}

Por los estudios llevados a cabo, se puede concluir que el contenido de antioxidantes de la LDL es crítica para su protección, y los compuestos fenólicos que son capaces de unirse a la LDL son buenos candidatos para la efectiva prevención de la peroxidación y el proceso aterosclerótico ²⁰.

Es comúnmente aceptado que los compuestos fenólicos en general son antioxidantes, y que aquellos que contienen una estructura ortodihidroxi-fenólica poseen una actividad antioxidante mayor. Sin embargo, poco se conoce sobre la actividad antioxidante de los metabolitos de compuestos fenólicos del aceite de oliva.

Tabla 8. Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del aceite de oliva.

TIPO DE ESTUDIO	COMPUESTO O SUSTANCIA ESTUDIADA	RESULTADOS	REFERENCIA
Estudios <i>in vitro</i> sobre la oxidación de partículas de LDL de origen animal en presencia de macrófagos	<ul style="list-style-type: none"> • Oleuropeína • Ac. protocatéquico 	<ul style="list-style-type: none"> • Disminución de la oxidación de la LDL causada por macrófagos • Capacidad de estimular la transcripción a nivel de mRNA del sistema endógeno de defensa antioxidante, con un consecuente incremento y restauración de la acción del complejo enzimático relacionado con el GSH. • Disminución de producción de especies reactivas al oxígeno 	104;120
Estudio <i>in vitro</i> en células del sistema inmunológico de ratón (Macrófagos, leucocitos, neutrófilos)	<ul style="list-style-type: none"> • Hidroxitirosol • Oleuropeína • Tirosol 	<ul style="list-style-type: none"> • Efecto secuestrador de radicales libres y disminución en producción y liberación de radicales libres O_2^-, H_2O_2. • Acción quelante con metales 	19;224;226;227

TIPO DE ESTUDIO	COMPUESTO O SUSTANCIA ESTUDIADA	RESULTADOS	REFERENCIA
<p>Estudio <i>in vitro</i> con LDL humana</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Extracto de aceite de oliva • Hidroxitirosol • Oleuropeína • Ácido Caféico • Tirosol • Aglicón de oleuropeína • Aglicón de ligstrósido • Alcohol homovainílico‡ • Ácido gálico • Catequina • Ac. 3,4-dihidroxi-fenil-acético • Aceite de oliva común • Aceite de oliva virgen 	<ul style="list-style-type: none"> • Efecto protector a la LDL de la oxidación inducida por metales y contra la oxidación dependiente de radicales libres. • Disminución dosis dependiente de la susceptibilidad de la oxidación • Disminución de marcadores oxidativos. Entre ellos la disminución de la formación de TBARS, peróxidos lipídicos, dienos conjugados y el aumento de fase de latencia a la oxidación. • Disminución de la modificación de la apoB. • Acción quelante de metales oxidantes • Acción secuestradora de radicales libres. • Preservación de α-tocoferol y compuestos fenólicos presentes en LDL. 	<p>19;20;22;106;1 07;228-230</p>

TIPO DE ESTUDIO	COMPUESTO O SUSTANCIA ESTUDIADA	RESULTADOS	REFERENCIA
Estudios <i>in vitro</i> realizados en otras células humanas (intestinales, células hepáticas, eritrocitos)	<ul style="list-style-type: none"> • Tirosol • Hidroxitirosol[‡] • Oleuropeína • Ácido gálico 	<ul style="list-style-type: none"> • Prevención del daño celular causado por oxidantes. • Efecto positivo del sistema de defensa, favoreciendo a la integridad de la célula ante una situación de estrés biológico. • Inhibición de la generación de radicales libres y efecto secuestrador de éstos 	103;218;231;232
Estudio <i>ex vivo</i> en animales de la susceptibilidad oxidativa de las LDL aisladas	<ul style="list-style-type: none"> • Aceite de oliva virgen • Oleuropeína 	<ul style="list-style-type: none"> • Disminución de formación de dienos conjugados. • Aumento de la latencia ante la oxidación de la LDL • Preservación de vitamina E 	108;233
Estudio <i>ex vivo</i> , en humanos de la susceptibilidad oxidativa de las LDL aisladas.	<ul style="list-style-type: none"> • Aceite de oliva común 	<ul style="list-style-type: none"> • Reducción de la susceptibilidad a la oxidación • Disminución de la lipoperoxidación, aumento de de la fase de latencia y disminución de hidroperóxidos. • Preservación de vitamina E 	10;116;167

TIPO DE ESTUDIO	COMPUESTO O SUSTANCIA ESTUDIADA	RESULTADOS	REFERENCIA
Estudios <i>in vivo</i> , en animales	<ul style="list-style-type: none"> • Aceite de oliva virgen • Extracto de olivas verdes y negras • Oleuropeína • Alpechín 	<ul style="list-style-type: none"> • Disminución del índice de estrés oxidativo inducido. • Aumento en el contenido de antioxidantes en plasma • Menor susceptibilidad a la oxidación en plasma. • Disminución de MDA en hígado y corazón • Aumento de la producción y actividad de SOD y CAT. 	221;233-236
Estudios <i>in vivo</i> en humanos.	<ul style="list-style-type: none"> • Aceite de oliva común • Aceite de oliva virgen‡ 	<ul style="list-style-type: none"> • Producción de beneficios a corto plazo en la resistencia a la oxidación • Incremento de la capacidad antioxidante del plasma, reduciendo el estrés oxidativo y modulando el estatus oxidativo/antioxidativo • Resistencia a la oxidación de la LDL • Disminución de indicadores de oxidación en plasma • Aumento de la actividad de glutatión y enzimas relacionadas. • Decremento dosis-dependiente de isoprostanos en orina. 	15;17;18;110-114;237;238

‡Actividad muy marcada, significativamente aumentada.

Son escasos los estudios que se han llevado con estos compuestos en específico, por lo que existe una urgencia especial en investigar sobre este campo. Tuck, *et al* 2002, estudian la capacidad antioxidante del alcohol homovainílico, hidroxitirosol monoglucurónido e hidroxitirosol monosulfato, en el cual encuentra que el conjugado glucurónido presenta una potencia mayor para actuar como antioxidante, mientras que el alcohol homovainílico y ácido homovainílico presenta una actividad antioxidante intermedia y el hidroxitirosol monosulfato casi no presenta dicha propiedad ^{179;199}. En otro estudio, Turner, *et al* 2005 concluyen que el alcohol homovainílico tiene una capacidad altamente antioxidante *in vitro*, y que aumenta el periodo de latencia a la oxidación de la LDL ²³⁹. Sin embargo, se necesitan un mayor número de estudios para establecer algo concluyente.

Entonces, los efectos vasoprotectores de los compuestos fenólicos pueden ser producidos por la inhibición de la oxidación, por la estimulación de otros mecanismos endógenos. Existen evidencias de que los compuestos fenólicos del aceite de oliva, además de ejercer sus actividades antioxidantes, mejoran la función endotelial, ya que éstos están relacionados con modulación de moléculas proaterogénicas de adhesión envueltas en la activación endotelial, inhibición de la vasoconstricción, agregación plaquetaria, y efectos anti-inflamatorios, entre otros ^{23;24;240}, por lo que el efecto protector de los compuestos fenólicos pueden resultar de la adición de una variedad de efectos producidos por diferentes mecanismos ¹⁹.

En el **Tabla 9** se plantean investigaciones que se han llevado a cabo en años recientes con diferentes compuestos fenólicos del aceite de oliva *in vitro*, en relación a otros efectos protectores cardiovasculares que no sean su capacidad antioxidante directamente.

Aunque hacemos distinción entre la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del aceite de oliva y otros efectos cardioprotectores distintos, es probable que algunos de ellos estén íntimamente relacionados con esta primera capacidad, ^{24;241}, sin embargo, en muchos casos, se logra demostrar que su función es independiente de este mecanismo ^{24;91;120;240;242;243}.

Tabla 9. Otras actividades de los compuestos fenólicos del aceite de oliva en relación al riesgo cardiovascular.

COMPUESTO(S) ESTUDIADO(S)	CLASE CELULAR	RESULTADOS	REFERENCIAS
<ul style="list-style-type: none"> • Hidroxitirosol 	Leucocitos humanos	Inhibición de LTB ₄ , lo que se relaciona a un efecto anti-inflamatorio	240
<ul style="list-style-type: none"> • Ácido caféico • Ácido ferúlico • Ácido protocatéquico* • Ácido gálico* • Ácido <i>p</i>-coumárico* 	Células endoteliales humanas	Disminución de la apoptosis. Mecanismo llevado a cabo bloqueando la señal intracelular que es causada por la LDL oxidada y la consecuente regulación de calcio en la célula.	243
<ul style="list-style-type: none"> • Oleuropeína 	Macrófagos de ratón	Efecto sobre el aumento de la acción de la NO sintasa (ONs) con un consecuente aumento en ON ^a	224
<ul style="list-style-type: none"> • Oleuropeína • Tirosol • Hidroxitirosol • Ácido caféico 	Leucocitos peritoneales de rata	Ejercen efectos anti-inflamatorios, por la disminución de la actividad del LTB ₄	223

COMPUESTO(S) ESTUDIADO(S)	CLASE CELULAR	RESULTADOS	REFERENCIAS
<ul style="list-style-type: none"> • Apigenina • Luteolina • Quercetina[†] 	Macrófagos de ratón	Mediación en la producción de NO	244
<ul style="list-style-type: none"> • Extracto de compuestos fenólicos de aceite de oliva • Oleuropeína* • Ácido caféico[†] 	Aorta de rata	Efecto vasorelajante con y sin endotelio, encontrando un efecto persistente usando inhibidores de NOs	107
<ul style="list-style-type: none"> • Isocromanos 	Plaquetas humanas	Disminución de liberación de tromboxano B ₂ (TXB ₂), factor relacionado a un efecto en la disminución de la agregación plaquetaria.	245
<ul style="list-style-type: none"> • Tirosol 	Macrófagos de ratón	Disminución de la movilización de ácido araquidónico y COX ₂ , lo que inhibe la expresión de prostaglandina E ₂ (PGE ₂) y LTB ₄ , factores relacionados con efecto anti-inflamatorio.	226

COMPUESTO(S) ESTUDIADO(S)	CLASE CELULAR	RESULTADOS	REFERENCIAS
<ul style="list-style-type: none"> • Oleuropeína • Hidroxitirosol • Tirosol* • Acido elenólico* • Aglicón de oleuropeína 	Células endoteliales de cordón umbilical humano	Disminuyen a nivel ácido ribonucleico (ARN) la expresión de moléculas de adhesión de leucocitos y monocitos, inhibiendo la expresión de la VCAM-1, E-selectina, ICAM-1, del NF-K β , este último factor relacionado con procesos inflamatorios.	241
<ul style="list-style-type: none"> • Hidroxitirosol • Tirosol 	Linfocitos humanos	Estimulación de la NOs en células endoteliales, a través de la regulación en el transporte de calcio. Consecuente aumento de NO.	24
<ul style="list-style-type: none"> • Ácido vainillico* • Ácido p-coumárico* • Ácido siríngico* • Ácido homovainillico* • Ácido caféico • Oleuropeína • Tirosol* 	Cultivos sanguíneos humanos	Efecto en la disminución de interleucina-1B y PGE2, factores relacionados con el proceso de inflamación.	246

COMPUESTO(S) ESTUDIADO(S)	CLASE CELULAR	RESULTADOS	REFERENCIAS
<ul style="list-style-type: none"> • Extracto de compuestos fenólicos del aceite de oliva • Aglicón de oleuropeína • Hidroxitirosol • Acido homovainílico 	Células endoteliales de cordón umbilical humano	Modulación a nivel ARN de moléculas de adhesión. (ICAM-1, VCAM-1 y E-Selectina).	242
<ul style="list-style-type: none"> • Hidroxitirosol 	Macrófagos de ratón	Inhibición del ácido araquidónico y COX2 con la consecuente reducción de la síntesis de eicosanoide PGE ₂ /LTB ₄	227

*Nula actividad observada bajo las condiciones del estudio.

†Efecto parcial observado bajo las condiciones del estudio.

^aEn la **Tabla 10** se explica las implicaciones de un aumento de NO en la función endotelial.

Tabla 10. Mecanismos relacionados con el aumento de NO en el endotelio vascular ^{19;24;174;246}.

- Incremento de la vaso-relajación y mantenimiento del tono vascular, con una consecuente protección antihipertensiva
 - Disminución de la agregación y adhesión plaquetaria
 - Prevención de la modificación oxidativa de la LDL
 - Disminución de la proliferación de las células musculares lisas
 - Disminución de la adhesión de monocitos
 - Capacidad anti-inflamatoria, por medio de la inhibición de la actividad de factor de necrosis tumoral (TNF α)
 - Modulación de reacciones antioxidantes y pro-oxidantes.
-

Estos resultados se han corroborado en varios estudios *in vivo*. Martínez-Domínguez E 2001 demostró el efecto anti-inflamatorio del aceite de oliva virgen en ratas ²⁴⁷. La disminución de TXB₂ y leucotrieno B₄ (LTB₄), marcadores de procesos inflamatorios, disminuyen significativamente en sujetos que han consumido aceite de oliva virgen ^{111;248}, también se ha relacionado el consumo de aceite de oliva virgen con una mejor reactividad endotelial, acompañada de vasodilatación que previene la hipertensión ^{113;249}.

Por otro lado, se ha demostrado un efecto hipocolesterolémico y un aumento de HDL, de los compuestos fenólicos del aceite de oliva en animales y humanos ^{15;221;233}.

3.2.6. Cambios en la composición de la LDL con respecto al consumo de aceite de oliva

La aterogenidad de las LDL está modulada por los niveles de estas en plasma, la afinidad a los componentes de la íntima, tamaño y su composición. Evidencia sustancial sugiere que la vulnerabilidad de la LDL a ser oxidada, puede ser modulada por los cambios en la LDL atribuidos por la dieta ^{26;27}. A continuación

hablaremos de los cambios que puede sufrir la LDL en relación al consumo de aceite de oliva.

3.2.6.1. Ácidos grasos

Las LDL son ricas en ácido linoleico el cual es muy susceptible a ser atacado por los radicales libres, por lo que este ácido graso es el principal sustrato para la oxidación. De hecho, la oxidación de la LDL empieza con la peroxidación de los AGPI en la partícula. Por consiguiente, la composición en ácidos grasos de la LDL contribuye, sin duda alguna, al proceso de oxidación de esta partícula. Existen estudios que sugieren que la vulnerabilidad de la LDL a ser oxidada puede ser modificada por los cambios atribuidos por la dieta de acuerdo a la concentración de AGPI y AGMI en la LDL, ya que las partículas ricas en AGMI son menos susceptibles a la oxidación comparadas con las LDL enriquecidas con AGPI ^{9-11;130;250}, por lo que las dietas ricas en ácido graso oleico, generan partículas de LDL que parecen ser más resistentes a la oxidación, mientras que un alto consumo de ácido graso linoleico puede incrementar la susceptibilidad a la oxidación de las lipoproteínas ^{9;136;251}.

La mayoría de las investigaciones, se enfocan en el estudio del perfil lipídico general ante el consumo de diferentes aceites y grasas, son pocas las investigaciones que estudian el cambio en la composición específica de la LDL en cuanto al ácido graso oleico en LDL en relación al consumo de diferentes tipos de aceite, entre ellos el aceite de oliva, en los que se observa un incremento significativo después de una ingesta sostenidas de fuentes ricas de ácido graso oleico, los cuales también demuestran un aumento en la resistencia a la oxidación de esta partícula ^{10;136;252}. Dietas lo suficientemente enriquecidas en ácido graso oleico, además de ejercer un efecto en la disminución en la concentración de LDL en plasma y aumentar el de HDL, puede prevenir también la progresión de la aterosclerosis, generando LDL resistentes a la modificación oxidativa ^{11;136}.

3.2.6.2. α -Tocoferol y compuestos fenólicos

Otra propiedad de la LDL que pueden modular la aterogenidad de esta partícula es el enriquecimiento de antioxidantes en esta partícula, ya que además del perfil de ácidos grasos, la formación de LDL oxidada depende de la cantidad de colesterol y también de la presencia y concentración de antioxidantes como la vitamina E y los compuestos fenólicos en LDL.

Por otro lado, el aceite de oliva es rico en vitamina E y compuestos fenólicos que han demostrado ser antioxidantes muy eficaces *in vitro* e *in vivo* 19;20;22;106;107;230;253-255.

Covas, MI *et al* 2000 logran demostrar que el tirosol es capaz de unirse a la LDL, después de incubar *in vitro* el plasma humano con extractos de aceite de oliva, utilizando diferentes concentraciones de compuestos fenólicos con una correlación con la resistencia a la oxidación. En esta publicación, se observa un aumento en la concentración de compuestos fenólicos presentes en la LDL, una incorporación del tirosol y un aumento en el periodo de latencia ante la oxidación de estas partículas dependiente de la concentración de compuestos fenólicos de cada extracto utilizado durante el estudio ²⁰.

Bonanome, A *et al* 2000 llevaron a cabo un estudio postprandial (100g de aceite) y a largo plazo (50g de aceite por día durante 1 mes) con aceite de oliva refinado y aceite de oliva virgen, en el que fueron determinadas las concentraciones de vitamina E, hidroxitirosol y tirosol. Mientras que en el estudio a largo plazo no encuentra una diferencia, en el estudio postprandial se encontraron las mayores concentraciones de hidroxitirosol y tirosol entre los 60 y 120 minutos. La capacidad antioxidante del plasma incrementó significativamente a los 120 minutos, mientras que la vitamina E no varió significativamente durante todo el estudio.

Gimeno, E *et al* 2002, además de medir la incorporación de ácido graso oleico en la LDL, estudian el cambio en la concentración de compuestos fenólicos totales y vitamina E después de una ingestión aguda de 50 mL de aceite de oliva

virgen y después de una ingestión sostenida de 25 mL de este mismo aceite durante una semana. En este estudio, varios cambios fueron observados después del periodo de ingestión sostenida de aceite de oliva virgen: una diferencia significativa en los niveles de vitamina E y compuestos fenólicos junto con el incremento de la resistencia a la oxidación de esta partícula *ex vivo* (Gimeno 2002).

Lamuela-Raventós, R *et al* 2004 observan un aumento de la quercetina en la LDL después del consumo de 25 mL por día de aceite de oliva virgen durante una semana ²⁵⁶. En este mismo estudio, tras un periodo de blanqueo en el que al no consumir fuentes ricas de compuestos fenólicos disminuyen los niveles de los mismos en LDL.

Gimeno, E *et al, in revision* evalúan las concentraciones de compuestos fenólicos y vitamina E en LDL, antes y después del consumo sostenido de 25 mL diarios durante 3 semanas de tres aceites de oliva, de similar composición, pero con diferente contenido de compuestos fenólicos: refinado, comercial y virgen. Observan que el aceite de oliva modificó a la composición de la LDL y el aceite rico en compuestos fenólicos ocasionó un incremento significativo en los compuestos fenólicos totales de la LDL. Los cambios en compuestos fenólicos mostraron un incremento lineal en LDL de acuerdo a la concentración de compuestos fenólicos en el aceite. Este incremento del contenido en compuestos fenólicos de la LDL estuvo relacionado con un incremento de la resistencia de la LDL a la oxidación. Los valores de vitamina E no mostraron diferencias significativas ²⁵², dado que los valores de esta vitamina eran similares en los tres aceites.

Estos resultados sostienen la hipótesis de que una ingesta diaria de aceite de oliva virgen cambia la composición de la LDL y la protege de la oxidación. El incremento de compuestos fenólicos totales, después del consumo de aceite de oliva se puede atribuir a la capacidad de los compuestos fenólicos del aceite de oliva a preservar otros compuestos fenólicos previamente unidos a al LDL. De esta manera, los compuestos fenólicos del aceite de oliva pueden preservar a la

LDL de la oxidación en los espacios sub-endoteliales de la arteria íntima, postergando mecanismos involucrados en el proceso aterosclerótico ²⁰.

Por otro lado, cabe agregar que la variabilidad entre sujetos cuando se estudian valores de compuestos fenólicos específicos en LDL es muy alta ^{33:139}, lo que complica la determinación de resultados concluyentes y la comparación entre resultados de los pocos estudios existentes.